No. 10 (Contribution. B) June 1955

MAR 1956
LIBRARY
POFI
FISH & WILDLIFE
SERVICE

BULLETIN
OF
TOKAI REGIONAL
FISHERIES RESEARCH LABORATORY

FISHERIES AGENCY

2062

水　産　廳

東海區水産研究所研究報告

第 10 号

東 海 区 水 産 研 究 所

東京都中央区月島三号地

昭和 30 年 6 月

TOKAI REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY
TSUKISHIMA, TOKYO, JAPAN

東海区水産研究所研究報告

第 10 号

([illegible])

目 次

水 産 資 源

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

[illegible]

東海区水産研究所研究報告

第 10 号
(昭和 30 年6月)

目　　次

水　産　資　源

生　　物

業績番号
阿 部 宗 明　(B—165)
八丈島のトビウオ類に就いて，及び日本近海のトビウオ類の学名に就いて—II．ハルトビ（附・トビウオ追記）
高 野 秀 昭　(B—183)
大島波浮港外で漁獲されたサバの食餌

数　　理

田 中 昌 一　(B—154)
測定誤差の頻度分布への影響——I．体長組成について
田 中 昌 一　(B—173)
漁獲努力量制限の効果について
田 中 昌 一　(B—178)
体長組成中にあらわれるモードの意義について——I．正規分布をする二群の混合した分布型

海　　洋

平 野 敏 行　(B—186)
浜名湖に於ける湖水の循環，陸水・外海水の流入及び潮流に就いて（貝毒の研究に関連して）
深 井 麟 之 助　(B—137)
北太平洋アリューシャン列島近海に於ける栄養塩類の分布及び変化に就て
深 井 麟 之 助　(B—144)
豆南黒潮海域に於ける微量化学成分の季節変化——II．海水中の珪酸塩含量と黒潮の変質に就て
深 井 麟 之 助　(B—149)
海水中の微量化学成分分析法の検討——I．燐酸態燐の定量
深 井 麟 之 助　(B—151)
海水中の微量化学成分分析法の検討——II．珪酸塩の定量に就てのノート

業績番号

増　　殖

浜田颯子・猪野　峻　(B—147)
ハマグリ (*Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING) の移動に関する研究——I.
粘液分泌腺の組織学的研究

相良順一郎・猪野　峻　(B—185)
ヒトデ稚子の適温・適比重試験

竹内卓三・松原孝之・下中元信・須藤俊造　(B—167)
海に入れたノリの "Conchocelis-Phase" からの胞子の放出とヒビ立て時期

須藤俊造　(B—168)
アサクサノリの生活史に就いて，特に秋に立込んだヒビに最初に着く胞子の性質——III.

須藤俊造・丸山武男・梅林　修　(B—169)
アサクサノリの "Conchocelis-Phase" からの胞子放出について

漁具・漁法

野村正恒・野沢　靖　(B—166)
水中を動く網地が受ける水の抵抗——IV. 網糸の吹かれ

下崎吉矩　(B—159)
海水中に浸漬された網糸の強さの変化について——I.
合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度と温度との関係，及び各種網糸の海水浸漬による強さの変化の比較

水産化学

魚介肉・蛋白

右田正男・岡田　稔　(B—150)
魚肉の坐りについて——IV. pH の影響

梅本　滋・岡田　稔・右田正男　(B—158)
魚肉の坐りについて——V. 坐りの判定及び比較の方法

右田正男・岡田　稔　(B—176)
魚肉の坐りについて——VI. 有機変性剤と無機塩の共存の影響

岡田　稔・多田節子　(B.—157)
魚介肉抽出液の流動複屈折

右田正男・松本重一郎　(B.—182)

業績番号

イカ肉の水抽出液中に見られる流動複屈折について——I. イカ肉の水抽出液中の異常成分

松本重一郎・石野芳雄・新井とみ子 (B—200)

濾紙クロマトグラフによる蛋白質中の酸性アミノ酸の定量について

高橋豊雄・竹井　誠 (B—198)

イカ煮熟肉の〝かたさ〟について

放射能汚染魚

天野慶之・山田金次郎・尾藤方通・高瀬　明・田中昭二 (B—194)

放射能汚染魚に関する研究——I. 魚体組織の放射能について

山田金次郎・戸沢晴巳・天野慶之・高瀬　明 (B—195)

放射能汚染魚に関する研究——II. 放射定性分析結果について

山田金次郎・戸沢晴巳・天野慶之・高瀬　明

放射能汚染魚に関する研究——III. Zn^{65} の確認について (B—196)

水産物利用

食品保蔵・加工

鉄本総吾・興津知明・福田正彦 (B—160)

水産食品の化学的保蔵の研究——III. フラン誘導体並びに既知防腐剤の殺菌力比較試験

興津知明・山田金次郎 (B—197)

防腐剤の混用による細菌の生育抑制効果について

天野慶之・内山　均・福田正彦・河端俊治・高瀬　明 (B—190)

水産煉製品に関する食品衛生学的研究——I. 加熱の際の煉製品中心部温度の上昇様式について

内山　均・天野慶之 (B—191)

水産煉製品に関する食品衛生学的研究——II. 煉製品に添加される澱粉の加熱による糊化について

河端俊治・高瀬　明・天野慶之 (B—192)

水産煉製品に関する食品衛生学的研究——III. 汚染及び中毒原因細菌の加熱致死条件について

高瀬　明・河端俊治・天野慶之 (B—193)

水産煉製品に関する食品衛生学的研究——IV. 煉製品擂身の製造工程中に於ける細菌汚染とその防止効果

油　　脂

金田尚志・桜井寿恵・石井清之助 (B—148)

脂質の栄養価に関する研究——XI.

業績番号

高度不飽和酸の栄養価及び毒性について(2)

金田尙志・酒井寿恵・石井清之助 (B—180)

脂質の栄養価に関する研究——XII. 高度不飽和酸の栄養価及び毒性について(3)

金田尙志・酒井寿恵・石井清之助 (B—181)

干物油の栄養価及び毒性について

金田尙志・酒井寿恵・石井清之助 (B—184)

高度不飽和酸の栄養価といわゆる魚油毒の本態

衣巻豊輔・田部井菊子 (B—171)

ビタミンA濃縮物に対する市販防酸化剤の効力

東 秀雄・村山繁雄・簗瀬正明・田部井菊子 (B—187)

塩乾品の油焼に於ける脂質の変化

東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎 (B—155)

深海産鮫類肝油の利用に関する研究——VII. ヨロイザメ科 (*Dalatiidae*) 肝油の炭化水素含量について

東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎 (B—170)

深海産鮫類肝油の利用に関する研究——VIII.
キンデンザメ (仮称) Centrophorus sp. 肝油の炭化水素含量について

東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎 (B—174)

深海産鮫類肝油の利用に関する研究——XI. ユメザメ (*Centroscymnus owstoni* GARMAN)の雄の肝油中の炭化水素含量と精巣の重量との関係について

東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎 (B—177)

深海産鮫類肝油の利用に関する研究——X. 諸種の深海産鮫類肝油の炭化水素含量並に深海産鮫類肝油の比重, 屈折率及び不鹼化物含量と炭化水素含量との関係について

ビ タ ミ ン

東 秀雄・新間彌一郎・衣巻豊輔 (B—153)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——I. 加工油の分子蒸溜

新間彌一郎・衣巻豊輔 (B—156)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——II. 鹼化法によるビタミンAの濃縮(その1)

新間彌一郎・衣巻豊輔 (B—172)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——III. 鹼化法によるビタミンAの濃縮(その2)

東 秀雄・山川健重・衣巻豊輔 (B—175)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——IV. 尿素によるビタミンAの濃縮

業績番号

新間彌一郎・菊地　嶺　(B—179)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——V.鹼化法によるビタミンAの濃縮(その3)液々抽出法

衣　巻　豊　輔　(B—199)

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究——VI.ビタミンA濃縮物のエステル化(其の1)酸クロリドによるアセチル化並にパルミチル化

平尾秀一・山田充阿彌・菊地　嶺　(B—162)

ニジマス卵のビオラキサンチン(予報)

平尾秀一・山田充阿彌・菊地　嶺　(B—188)

魚肉のビタミンAに関する研究——II.体側の左右によるビタミンA含量の差異

平尾秀一・山田充阿彌・菊地　嶺　(B—189)

魚肉のビタミンAに関する研究——III.魚の個体による肉のビタミンA含量の差異

皮　　革

高橋豊雄・横山和吉　(B—161)

水産皮革の理化学的研究——X.サメ皮蛋白質について

高橋豊雄・竹井　誠　(B—163)

水産皮革の理化学的研究——XI.魚皮コラーゲンに対するトリプシンの作用

高橋豊雄・横山和吉　(B—164)

水産皮革の理化学的研究——XII.魚皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量

高　橋　豊　雄　(B—202)

水産皮革の理化学的研究——XIII.サメ皮の膨潤について(其の二)

高　橋　豊　雄　(B—203)

水産皮革の理化学的研究——XIV.濃塩酸によるサメ植物タンニン鞣革の品質低下

TABLE OF CONTENTS

MARINE RESOURCES

Biology

Contribution No.

ABE, T. (B—165)

Note on the Flying-fishes of Hachijo Island, with Nomenclatorial Remarks on the Flying Fishes of the Mainland of Japan and Hokkaido— II. *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*, (with Additional Notes on *Prognichthys agoo*).

TAKANO, H. (B—183)

The Food of the Mackerel Taken near Ōshima Island in 1953.

Mathematics and Statistics

TANAKA, S. (B—154)

Effect of Measurement Error on Observed Frequency Distribution— I. Length Composition.

TANAKA, S. (B—173)

The Effect of Restriction of Fishing Effort on the Yield.

TANAKA. S. (B—178)

Meaning of Mode in a Length Distribution of fish— I. Compound of Two Normal Distributions.

OCEANOGRAPHY

HIRANO, T. (B—186)

On the water Exchange and the Current in Hamana Lake in Relation to Occurrences of Toxic Shellfish.

FUKAI, R. (B—137)

On the Distribution and Variation of Nutrient Salts in the Adjacent Waters to the Aleutian Islands in the North Pacific.

FUKAI, R. (B—144)

Seasonal Variations of Minor Chemical Constituents in the Waters of the Zunan-Kuroshi Region— II. Silicate Contents of Sea Water and Changes in Quality of the Kuroshio.

FUKAI, R. (B—149)

Critical Studies on the Analytical Methods for Minor Chemical Constituents in Sea Water. Part— I. On the Estimation of Phosphate-phosphorus.

Contribution No.

Fukai, R. (B—151)

Critical Studies of the Analytical Methods for Minor Chemical Constituents in Sea Water. Part—— II. Some Notes on the Determination of Silicate.

MARINE PROPAGATION

Hamada, S. and Ino, T. (B—147)

Studies on the Movement of the Japanese Hard Clam, *Meretrix meretrix lusoria* (Röding)—— I. Histological Studies on the Mucous Gland in Relation to Locomotion.

Sagara, J. and Ino, T. (B—185)

The Optimum Temperature and Specific Gravity for Bipinnaria and Young of Japanese Starfish, *Asterias amurensis* Lütken.

Takeuchi, T., Matsubara, T., Shitanaka, M., and Suto, S. (B—167)

On the Shedding of Spores from Cultured "Conchocelis-Phase" of *Porphyra tenera* set in the Sea.

Suto, S. (B—168)

On the Life-history of *Porphyra tenera*——III.

suto, S., Maruyama, T., and Umebayashi, O. (B—169)

On the Shedding of Spores from "Conchocelis-Phase" of *Porphyra tenera* Cultured in Shells of Bivalves.

FISHING GEAR AND METHODS

Nomura, M. and Nozawa, Y. (B—166)

Resistance of plane Net against Flow of water——IV.

On the Inclination of Threads in a Current.

Shimozaki, Y. (B—159)

On the Change in Strength of Netting Cords Immersed in th Sea—— I. Relation between the Strength of Synthetic Netting Cords and the Temperature, and Comparison of power of Various Kinds of Cords Changing when Immersed in the Sea.

CHEMISTRY OF AQUATIC PRODUCTS

Muscle Proteins of Aquatic Animals

Migita, M. and Okada, M. (B—150)

Setting Phenomenon of Fish Muscle——IV. Influence of Hydorogen Ion Concentrations

Contribution No.

UMEMOTO, S., OKADA, M. and MIGITA, M. (B—158)
Setting Phenomenon of fish Muscle——V. A Gradation Method of Setting Ability of fish Meats.

MIGITA, M. and OKADA, M. (B—176)
Setting Phenomenon of Fish Muscle——VI. Influence of Coexistent Organic Denaturants on Setting Phenomenon Caused by Inorgnic Salts

OKADA, M. and TADA, S. (B—157)
Streaming Birefringence in Extracts of Muscles of Aquatic Animals.

MIGITA, M. and MATSUMOTO, J. J. (B—182)
On the Nature of the Streaming Birefringence Observed in the Aqueous Extracts of Squid Muscle——I. An Anomalous Component in the Aqueous Extrcts of Squid Muscle.

MATSUMOTO, J. J., ISHINO, Y. and ARAI, T. (B—200)
A Quantitative Paper-Chromatography of Acidic Amino-Acids.

TAKAHASHI, T. and TAKEI, M. (B—198)
On the Toughness of Boiled Squid Meat.

Radiologically Contaminated Fish

AMANO, K., YAMADA, K., BITO, M., TAKASE, A. and TANAKA, S. (B—194)
Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish——I. Distribution of Radioactivity in Various Tissues of Fish.

YAMADA, K., TOZAWA, H., AMANO, K. and TAKASE, A. (B—195)
Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish——II. Group Separation of Radioactive Elements in Fish Tissues.

YAMADA, K., TOZAWA, H., AMANO, K. and TAKASE, A. (B—196)
Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish——III. Separation and confirmation of Zn^{65} in the Muscle Tissue of a Skipjack.

UTILIZATION OF AQUATIC PRODUCTS

Food Preservation and Processing

TETSUMOTO, S., OKITSU, T. and FUKUDA, M. (B—160)
Studies on Preservation of Marine Products by Chemicals——III. Comparative Test of Bactericidal Effect of Nitrofuran Derivertives and Some Preservatves.

OKITSU, T. and YAMADA, K. (B—197)
Effect of Mixed Preservatives on the Retardation of Bacterial Growth.

Contribution No.

AMONO, K., UCHIYAMA, H., FUKUDA, M., KAWABATA, T. and TAKASE, A. (B—190)
Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products——I.
The Rate of Penetration of Cooking Temperature in Fish-cakes of Commerce

UCHIYAMA, H. and AMANO, K. (B—191)
Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products——II.
The Relation of Cooking Temperature to the Gelatinization of Starch Granules in Fish-cake.

KAWABATA, T., TAKASE, A. and AMANO, K. (B—192)
Food Hygienical Studies on Japanese Fise-cake Products——III.
Thermal Death Condition of Some Causative Organisms of Food Poisoning and Other Enteric Bacteria in Fish-cake Products.

TAKASE, A., KAWABATA, T. and AMANO, K. (B—193)
Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products——IV.
Bacterial Contamination Occurred during the Manufacturing process of HAMPEN (a Kind of Fish-cake Products) and the Sanitary Control.

Fats and Oils

KANEDA, T., SAKURAI, H. and ISHII, S. (B—148)
Studies on the Nutritive Value of Lipids——XI.
Nutritive Value or Toxicity of Highly Unsatulated Fatty Acids (2).

KANEDA, T., SAKAI, H. and ISHII, S. (B—180)
Studies on the Nutritive Value of Lipids——XII.
Nutritive Value or Toxicity of Highly Unsaturated Fatt Acids (3).

KANEDA, T., SAKAI, H. and ISHII, S. (B—181)
Nutritive Value or Toxicity of Oils of Salted and Dried Fishes.

KANEDA, T., SAKAI, H. and ISHII, S. (B—184)
Nutritive Value of Highly Unsaturated Fatty Acids and the Origin of Toxicity of Fish Oils.

KINUMAKI, T. and TABEI, K. (B—171)
Stabilizing Effect of Commercial Antioxidants on Vitamin A Concentrate.

HIGASHI, H., MURAYAMA, S., YANASE, M. and TABEI, K. (B—187)
Studies on the Variation of Lipid in Discoloration of Salted and Dried Fish.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (B—155)
Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks——VII.
Hydrocarbon Content in the Liver Oil of the Order of "Yoroizame" *Dalatiidae*.

Contribution No.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (B—170)
Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks——VIII. Hydrocarbon Content in the Liver Oil of "Kindenzame" *Centrophorus sp.*

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (B—174)
Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks——IX. The Relation between Hydrocarbon Content in Liver Oil of Male of "Yomezame", *Centroscymnus owstoni* GARMAN and Their Milt weight.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (B—177)
Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks——X. Hydrocarbon Content in Liver Oil of Various Deep Sea Sharks and Its Relationships with Specific Gravity, Refractive Index and Unsaponifiable Matter Content.

Vitamins

HIGASHI, H. SHIMMA, Y. and KINUMAKI, T. (B—153)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——I. Molecular Distillation of Modified Oil.

SIMMA, Y. and KINUMAKI, T (B—156)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——II. Concentration of Vitamin A by Saponification.
1. Reexamination of TAKAHASHI's Method.

SIMMA, Y. and KINUMAKI, T. (B—172)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——III. Concenrtation of Vitamin A by Saponification.
2. Precipitating Method.

HIGASHI, H., YAMAKAWA, T. and KINUMAKI, T. (B—175)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——IV. Application of Urea Complex in the Concentration of Vitamin A.

SHIMMA, Y. and KIKUCHI, R. (B—179)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——V. Concentration of Vitamin A by Saponification.
3. Liquid-Liquid Extraction (Part a).

KINUMAKI, T. (B—199)
Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil——VI. Esterification of Vitamin A Concentrate.
1. Acetylation and palmitylation with Acid Chloride.

HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R. (B—162)

Contribution No.

Violaxanthin in Rainbow Trout Egg.

HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R. (B—188)

Vitamin A in Fish Meat——II.

Variation in the Vitamin A Content in Fish Meat by the Body Side.

HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R. (B—189)

Vitamin A in Fish Meat——III.

Individual Fluctuation in the Vitamin A Content in Fish Meat.

Skin and Leather

TAKAHASHI, T. and YOKOYAMA, W. (B—161)

Physico-Chemical Studies on the skin and Leather of Marine Animals——X.

On the Protein in Shark Skin.

TAKAHASHI, T. and TAKEI, M. (B—163)

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals——XI.

The Tryptic Digestion of the Collagen in Fish Skin.

TAKAHASHI, T. and YOKOYAMA, W. (B—164)

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals——XII.

The Content of Hydroxyproline in the Collagen of Different Fish Skin.

TAKAHASHI, T. (B—202)

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals——XIII.

Swelling of Shark Skin (2).

TAKAHASHI, T. (B—203)

Physico-Chemical Studies on the skin and Leather of Marine Animals——XIV.

Degeneration of the Vegetable Tanned Shark due to HCl.

水　産　資　源

MARINE RESOURCES

生　　物

Biology

数　　理

Mathematics and Statistics

Reprinted from "Japanese Journal of Ichthyology", Vol. 3. 1954

Notes on the Flying-fishes of Hachijo Island, with Nomenclatorial Remarks on the Flying-fishes of the Mainland of Japan and Hokkaido. II. *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*. (With Additional Notes on *Prognichthys agoo*)*

Tokiharu Abe

(Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, and Zool. Inst., Fac. Sci., Tokyo Univ.)

With the exception of *Prognichthys agoo* (Temminck et Schlegel) dealt with in a previous paper (Abe, 1953), all the ~~other~~ economically important forms of flying-fishes of Hachijo Island and the mainland of Japan are referable to the so-called *Cypselurus*. In the present paper some notes on the most important form for the people of Hachijo, namely, *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* (Franz), are given. This form is the giant among the Japanese flying-fishes, and economically important in the other parts of Japan, *e. g.*, southern parts of Kyushu, Shikoku, Kii Peninsula and Bōsō Peninsula. Japanese ichthyologists have adopted the name of "Hama-tobi-uo" for its adult, and probably "Seto-tobi-no-uo" for its young, but these names are not being used by fishermen and fish-dealers. This form is called "Haru-tobi" in Hachijo, and "Kaku-tobi" in Tokyo (*cf.* Abe, 1953, pp. 117, 118).**

In 1953, a very good catch of the "Haru-tobi" comparable to that of 1950 (*cf.* Abe, 1953, p. 115) was observed in Hachijo. Mr. Tadashi Kusakari, Hachijo Branch Station, Tokyo Prefectural Fisheries Experiment Station, has kindly gathered its catch record for the writer which is given in table 1. The writer wishes to express here his sincere thanks to Mr. Kusakari for his cooperation. The total number of the individuals of this flying-fish handled at the five fishing villages of the island during the fishing season, February 21 – May 12, 1953, was 1,776,988, which weighed some 766.4 metric tons. The average weight of the individual fish was 0.431 kg (115 mon-me).

Table 1. Catch record of "Haru-tobi," *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*, in 1953 from Hachijo (number of individuals and approximate weight in metric tons in parentheses)†

February 21 – 28	March			April			May 1 – 12	Total
	1 – 10	11 – 20	21 – 31	1 – 10	11 – 20	21 – 30		
7216 (3.1)	24821	125167	510753	558476	400083	143797	6675 (2.9)	1776988 (766.4)
	(285.0)			(475.4)				

* Contribution from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, B. No. 165. Aided by a grant-in-aid from the National Committee, UNESCO, Ministry of Education, Japanese Government.

** The name "Kaku-tobi" is sometimes misleading, because one of the flying-fishes taken commercially near Tanegashima, Japan Sea and southern Japan is likewise called "Kaku-tobi." It is a medium-sized form, *Cypselurus heterurus döderleini* (Steindachner).

† A considerable quantity of this flying-fish consumed by the fishermen and their friends is not included in the record.

The number of the individuals of this flying-fish handled at the five villages of Hachijo was:

Mitsune-mura	595,717	(256.9 metric tons)
Okago-mura	509,284	(219.7 〃)
Nakanogo-mura	407,945	(175.9 〃)
Sueyoshi-mura	218,463	(94.2 〃)
Kashidate-mura	45,579	(19.7 〃)
Total	1,776,988	(766.4 〃)

As in usual years, large shoals of the "Haru-tobi" in 1953 were first seen by fishermen near Tori-shima (south of Hachijo I.) late in February. One of the fishing boats then took tens of metric tons of this fish near Tori-shima, and shipped them to Central Wholesale Market of Tokyo. The climax of the catch in 1953 was observed late in March and early in April near Hachijo. About three weeks prior to the closure of the fishing of this fish there (*cf.* table 1), smaller shoals of this fish appeared near Miyake I. (north of Hachijo I.) and Oshima (north of Miyake I.), whence more than a hundred metric tons of the fish were shipped to the market just mentioned. Early in May, 1953, smaller shoals of this flying-fish were found near the southern coast of Bōsō Peninsula, where in autumn of the same year a considerable quantity of the fish was taken as in the corresponding season of 1952. The present writer has seen only two adult examples of this fish taken during July – August of 1952 and 1953; an adult example was taken by a trap net off Yoichi (southern part of Ishikari Bay, Hokkaido) on August 5, 1952, and another adult example was taken near Izu-shichito (probably a short distance south of Oshima) at the last of August, 1953. After September 17 till December, 1953, this flying-fish was taken commercially along the southern coasts of the mainland of Japan, and more especially near Bōsō Peninsula and Kii Peninsula as in the corresponding season of 1952*. According to Prof. Imai, it is taken every year along the south-eastern coast of Kyushu during November-March by long-line (instead of by drift net).** Late in December, 1953, and in January, 1954, a considerable quantity of this flying-fish was shipped to the market of Tokyo from the southern coast of Shikoku. According to Mr. Haruo Nagato, Kōchi Prefecture, it was also taken in the day-time by long line using attenuated pieces of squid muscle as bait. In the middle of February, 1954, the fishing of this giant flying-fish was again begun near Tori-shima and Hachijo by gill-net in the night.† Thus it may be said that this flying-fish is taken commercially all the year round, excepting for summer, somewhere in Japanese waters. The writer is now trying to learn more about the relationship between the shoals of this fish approaching Japanese coasts supposedly from Tori-shima (or more southerly seas) in February and those taken along the south-eastern coast of Kyushu and southern coast of Shikoku during November – March. At all events this form prefers colder water†† for breeding than do the other Japanese congeners.

It is rather surprising to see that the only account in considerable detail of this important flying-fish taken in Japanese waters is that of Dr. Tanaka (1913) under

* In autumn of 1952 and 1953, it was taken from time to time along the western coast of Sagami Bay by trap net.

** In November, 1952, the writer obtained several adult examples of this fish taken by a trap net at Akamizu, Kyushu (*cf.* table 2).

† After this paper went to press, this flying-fish was taken near Yakushima (south of Kyushu by a fishing boat. The fishermem of the boat tried the fishing there by their gill-net for the first time probably following the suggestion by the writer. The fish was taken late in February, 1954.

†† The surface temperature of the water at the fishing ground near Hachijo, where also the fish spawns, is about 19°C, which is a little higher than the mininum surface temparature of a year there occurring in February or March. For the surface temperature see Takano, 1954.

the name of *Cypselurus agoo;* the original description by FRANZ is extremely brief. As Dr. TANAKA's description, however, lacks some essential detail, it is thought timely to describe anew an adult example in more detail. Unfortunately, the writer has so far not been able to locate the specimen upon which Dr. TANAKA's description and figures were based. It might have been damaged by the earthquake in 1923.

Cypselurus pinnatibarbatus japonicus (FRANZ)

"Hama-tobi-uo"; "Kaku-tobi"; "Haru-tobi"; "Ō-tobi";
"Koshi-naga"; ? "Seto-tobi-no-uo" (young)

Figs. 1 – 6

Exocoetus lineatus japonicus FRANZ, 1910, p. 24 (Oyama, Sagami); 310 – 410 mm long.
Cypselurus agoo TANAKA, 1913, pp. 215 – 217, pl. 58, fig. 219, pl. 60, figs. 222, 223 (off Izu); total length 355 mm.
? *Cypselurus solandri* JORDAN, TANAKA and SNYDER, 1913, p. 108 (Kōbe). – KAMOHARA, 1950, p. 70 (Wakayama Pref. and Kōchi Pref.).

Description of the adult example depictured in fig. 1 (Cat. No. 47853, Zool. Inst., Fac. Sci., Tokyo Univ.):

The specimen was taken near Chikura (Bōsō Peninsula) on September 18, 1952, and collected by the writer on the next day at Central Wholesale Market of Tokyo. It measures *ca.* 430 mm in total length, 364 mm in fork length, 346 mm in standard length and weighs 490 g (130 mon-me). The following measuremens are given in hundredths of the standard length: Length of head 20.2, greatest depth of body 17.1, greatest breadth of body 12.4, greatest breadth of trunk 10.8, least depth of caudal peduncle 5.5, diameter of orbit 5.3, bony interorbital breadth (above centers of orbits) 7.2, length of snout 6.4; predorsal length 74.0, preventral length 59.2, preanal length 79.8, distance between hind margin of opercular flap and origin of ventral fin 39.0, distance between ventral origin and base of anteriormost rudimentary caudul fin-ray 37.9, length of longest (2nd) dorsal fin-ray 10.1, length of longest (3rd) anal fin-ray 6.3, length of logest (3rd) pectoral fin-ray 68.2, length of longest (3rd from outside) ventral fin-ray 25.7 (left) or 26.3 (right), length of longest (lowermost branched) caudal fin-ray *ca.* 26.9, length of base of dorsal fin 14.7, length of base of anal fin 10.0.

General appearance, and color in formalin. The body is rather slender, slightly constricted below the posterior part of the pectoral bases and slightly expanded laterally at the ventral bases. The head is short. The posterior tip of the pectoral fin, when appressed, reaches a little beyond the base of the last dorsal fin-ray, but does not reach beyond the tip of the appressed last dorsal fin-ray. The posterior tip of the ventral fin, when appressed, reaches the interspace between the bases of the 7th and 8th anal fin-rays. The lateral line is along the ventral ridge of the trunk.

The dorsal part of head and trunk are brownish black (bluish black prior to preservation); the ventral part is light brown (whitish prior to preservation); there is a dark bluish or violet longitudinal band along the middle of the posterior part of the side of the trunk. The dorsal side of the pectoral fin is mostly light brownish violet, with

a whitish band of moderate breadth along the posterior margin and with a wide lighter part near the center of the fin. The dorsal fin is semi-transparent, with an indistinct black blotch distally (which is not shown in fig. 1). The anal fin is whitish. The ventral fin is whitish, only the dorsal side of the fin-rays being proximally dark brown. The caudal fin is blackish.

Teeth. The teeth of the jaws are long, distally conical, and arranged mostly in a single row (*cf.* "Notes on the other specimens" given below). The palatine and vomerine teeth are absent.

Scales. The scales are cycloid. The number of the predorsal scales (counted from the one just above the pair of the posterior horns of the supraoccipital to the smaller one covering the base of the 1st dorsal fin-ray) is 46. The number of the preventral scales (counted from the one on the isthmus to the one just in advance of the line connecting the anterior ends of the ventral bases) is *ca.* 31. The number of the series of scales from the dorsal corner of the gill-opening to the one covering the base of the caudal fin-ray is *ca.* 62. The number of scales in an oblique row above the lateral line* from dorsal origin is 1/2 6; the number of scales in an oblique row below the lateral line to the anal origin* is 2 1/2. The number of scales along the lateral line is very difficult to count.

Fin-formulae. D. 12 (=i+11; 1st ray a little shorter than 2nd; last ray thick). A. 11 (=ii + 19; 1st ray very short; last ray bifid to the base). P. *i* (very short; left and right halves proximally fused with one another)+15 (=i+14) on each side.

The number of caudal fin-rays, branchiostegals and gill-rakers on 1st arch have not been examined *cf.* "Notes on the other specimens" given below).

Notes on the other specimens listed in table 2:

Table 2. List of the other specimens examined of *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Number of specimens	Total length (mm)	Fork length (mm)	Standard length (mm)	Weight (g)	Sex	Maturity	Locality	Date of collecting, and remarks
1	*ca.* 400						Off Yoichi, Hokkaido	August 3, 1952. By a trap net
1	*ca.* 200		165				Onahama	Nonbarbelled. Depicted in fig. 3
3	*ca.* 400–*ca.* 415	341–360	320–346	405–490			Off Onjuku	Around September 11, 1953. By a gill-net
7	*ca.* 380–460	331–382	312–360	330–550	♂ 4 ♀ 3	Testes very narrow. Eggs invisible for naked eye	Katsuura, Chiba Pref.	September 18, 1953. By a gill-net

*The counting was made after Hubbs and Lagler, 1947.

1		393		575	♀		Manazuru	October 5, 1952. By a trap net
2		334, 352	324, 336	335, 390	♂, ♂		〃	November 2, 1952. By a trap net
2	*ca.* 400, 450	333, 373	315, 355	310, 565	♂, ♀	Diameter of egg 1.2 mm. Testes fairly thick	〃	Night of December 6–7, 1952. By a trap net. No other flying-fish in the catch
1	*ca.* 450	365	349		♀	Eggs very small	Itō	October 7, 1953. By a trap net
5	430–470	356–390		490–630	♀, ♀, ♀, ♀, ?	〃	Chikura	September 18, 1952
4	*ca.* 48.0–127	*ca.* 42.0–112	38.5–105				Izu-shichito	Barbelled. The largest and the smallest specimens depictured in figs. 4a, 4b, 4c, 6
1	198	166	157				〃	Nonbarbelled.
10	403–429	335–361	318–342	370–455	♂ 8. 2 specimens not dissected		Near the entrance of Habu Harbor, Ōshima	April 24, 1953
1	80	70	66				Ōmurodashi (near Ōshima) (a fishing ground for the mackerel)	Night of May 19–20, 1953. Barbelled. Barbel red. Depictured in figs. 5a, 5b
3	79–115	68–100	64–94				〃	Night of may 20–21, 1953. Barbelled
3	*ca.* 400–*ca.* 410						Hachijo I.	Spring of 1951
1	*ca.* 405	340	320		♂	Testes large	〃	Spring of 1952. By a gill-net
20	385–420	322–353	302–333	370–520	♂ 20	〃	〃	Night of February 24–25, 1953, By a gill-nat
20	390–420	324–355	306–336	305–450	♂ 18, ♀ 2	After spawning	〃	Night of March 7–8, 1953. By a gill-net
20	388–450	328–380	311–362	360–525	♂ 16, ♀ 4	〃	〃	Night of March 27–28, 1953. By a gill-net

20	400–440	333–368	312–346	320–480	♂ 18, ♀ 2	〃	〃	Night of April 27–28, 1953. By a gill-net
6	415–465	356–402	338–380	450–690	♂ 3, ♀ 3	Spawning	〃	April, 1953. By a gill-net
1	108	94	87				0.5 miles off Ō-hirakata, Mitsune-mura, Hachijo I.	11 p.m., May 7, 1953. Barbelled. Attracted by a lamp. Surface temperature 20.5°C. Collected from 4 individuals of approximately the same size
3		332, 386, 395	310, 366, 375	400, 630, 745	♂ 1, ♀ 2	Eggs just visible for naked eye. Testes large	Akamizu, Nobeoka City, Kyushu.	November 1–10, 1952. By a trap net
2	*ca.* 402, *ca.* 423	342, 367	320, 346	400, 450	♂ 2		Near Aogashima	February, 1953. By a gill-net
2	*ca.* 400, *ca.* 402	339, 342	316, 322	370, 400	♂ 2		Near Torishima	February, 1953. By a gill-net

Vertebral column, interneural and interhaemal spines. The total number of vertebrae of *japonicus* is the largest among the Japanese flying-fishes of the genus *Cypselurus*; it is 51 (34+17 in 3 specimen; 35+16 in 5 specimens*) or 52 (35+17 in 5 specimens). The last vertebra has a nearly horizontal stay on both sides.

The number of interneurals is 12 in 2 specimens, 13 in 9 specimens and 14 in 2 specimens. The 1st interneural has a pair of horns directed forward at its antero-dorsal corner; the last interneural has als) a pair of horns directed backwards at its postero-dorsal corner. The lower limb of the 1st interneural is inserted between the neural spines of 28th and 29th vertebrae in 6 specimens and between the neural spines of the 29th and 30th vertebrae in 7 specimens. Correlated with the position of the 1st interneural, the relative length of the neural spine becomes abrubtly smaller at the 29th or 30th vertebra; the neural spine just behind the lower limb of the 1st interneural is much shorter than the preceding neural spine. The lower limb of the last interneural is inserted between the neural spines of the 40th and 41st vertebrae in 9 specimens and between the neural spines of the 41st and 42nd vertebrea in 4 specimens. In most cases 1 interneural is inserted between 2 successive neural spines.

The number of interhaemals is 10 in 5 specimens and 11 in 8 specimens. There

* In 1 specimen the 35th vertebra has nearly a complete haemal arch, but it is not closed ventrally.

are 2 interhaemals placed anterior to the 1st haemal spine in 1 specimen, 3 interhaemals at the corresponding place in 6 specimens and 4 interneurals at the corresponding place in 5 specimens. The last interhaemal has a pair of horns directed backwards at its postero-ventral corner. The last interhaemal is inserted between the haemal spines of the 40th and 41st vertebrae in 2 specimens, between the haemal spines of the 41st and 42nd vertebrae in 8 specimens and between the haemal spines of the 42nd and 43rd vertebrae in 3 specimens. The number of the interhaemals between 2 successive haemal spines is 1 or 2 (usually 1).

(to be concluded)

Explanation of figs. 1 – 7

Drawn by M. SHIRAO

Figs. 1-6: *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* (FRANZ)

Fig. 1. Adult. Cat. No. 47853, Z. I. T. U. Total length *ca.* 430 mm; standard length 346 mm. *vide* pp. 195, 196.

Fig. 2. Right pectoral fin of an adult taken in the night. Cat. No. 9907, ABE. Total length *ca.* 420 mm; standard length 330 mm. Taken from Izu-shichito in spring, 1953.

Fig. 3. Young. Nonbarbelled. Cat. No. 37669, Z. I. T. U. Total length *ca.* 200 mm; standard length 165 mm. *vide* p. 196.

Figs. 4a, 4b, 4c. Barbelled young. Cat. No. 9709, ABE. Total length *ca.* 127 mm; standard length 105 mm. *vide* p. 197.

Figs. 5a, 5b. Barbelled young. Cat. No. 8928, ABE. Total length 80 mm; standard length 65.5 mm. *vide* p. 197.

Fig. 6. Barbelled young. Cat. No. 9079, ABE. Total length 48.0 mm; standard length 38.5 mm. *vide* p. 197.

Fig. 7. *Prognichthys agoo* (TEMMINCK *et* SCHLEGEL)

Young with a black pectoral spot. The ventral fin is blackish. The black blotch on the dorsal fin is very conspicuous. Cat. No. 9185, ABE. Total length 243 mm; standard length 193 mm. Taken near Miyake Island or Ō-shima (Izu-shichito) on July 23, 1953. When he published the first of the series of the papers (ABE, 1953), the writer was not aware of the remarkable changes in the coloration with advancing age in this species because of the lack of the young examples. In summer, 1953, he obtained numerous examples of this species, among which were several young examples showing that the coloration, especially of the pectoral and ventral fins, is much variable.

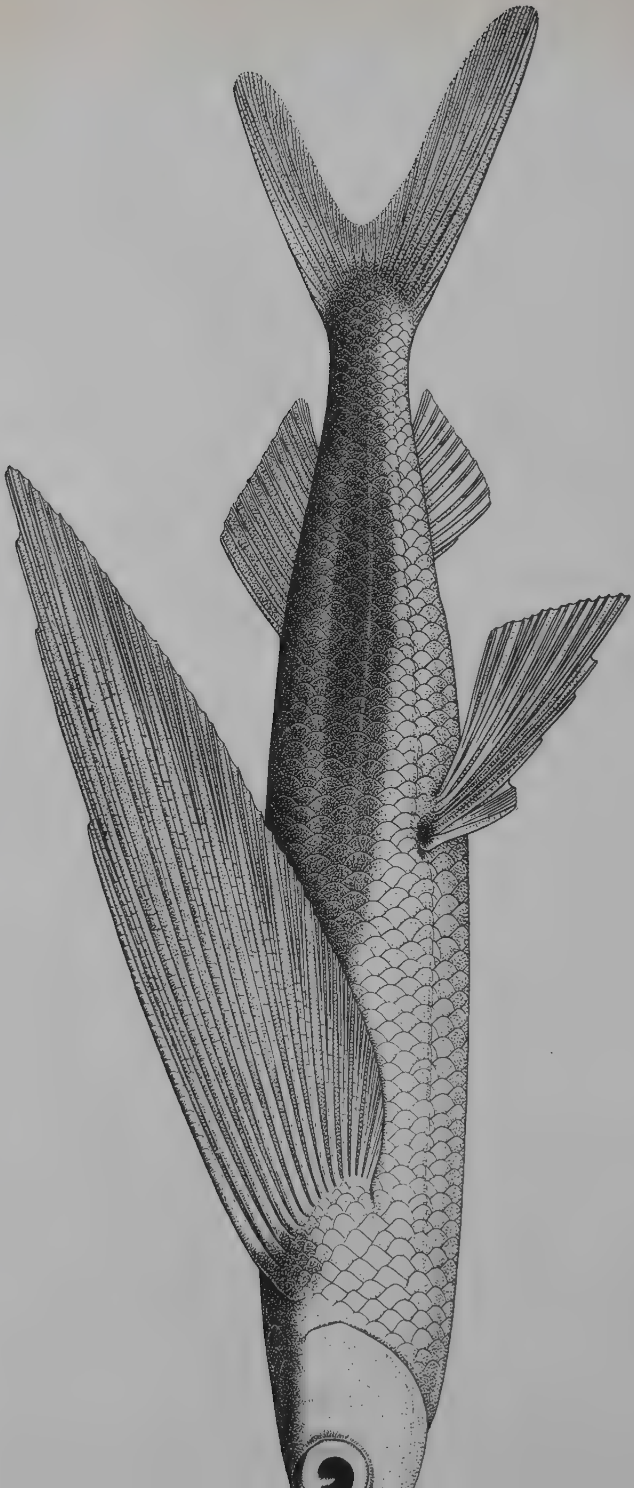


Fig. 1

Fig. 2

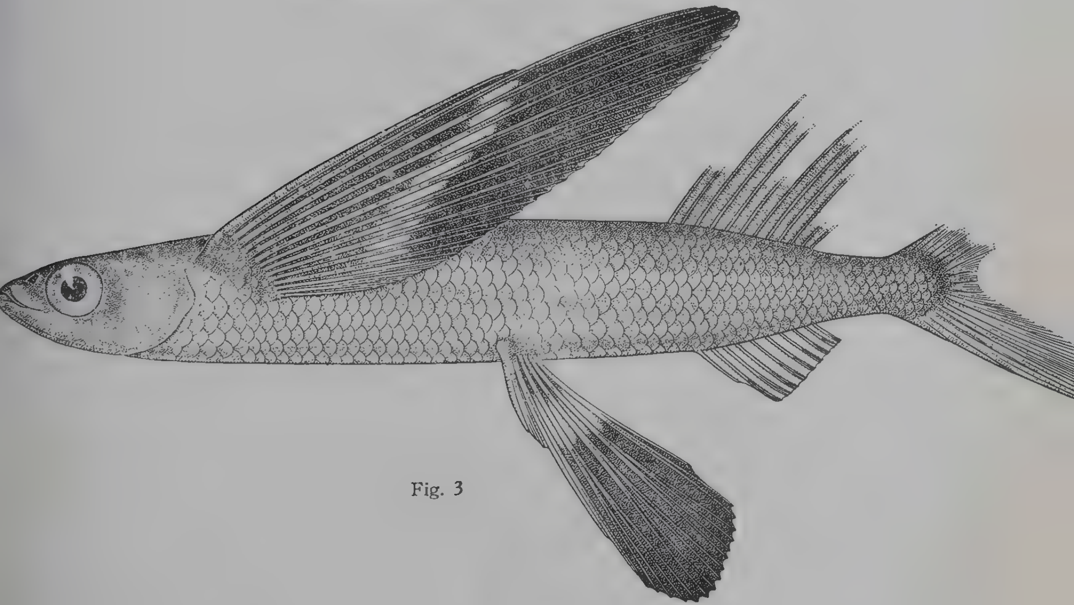


Fig. 3

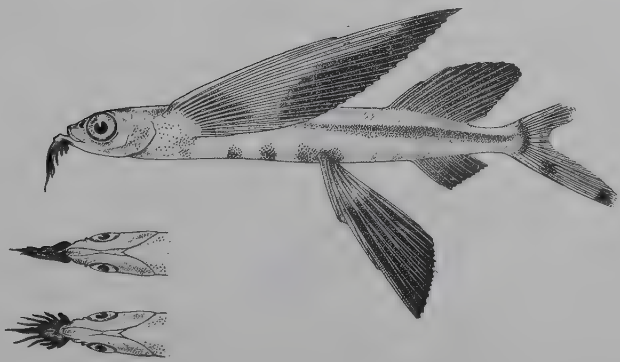


Fig. 4a

Fig. 4b

Fig, 4c

Fig. 5a

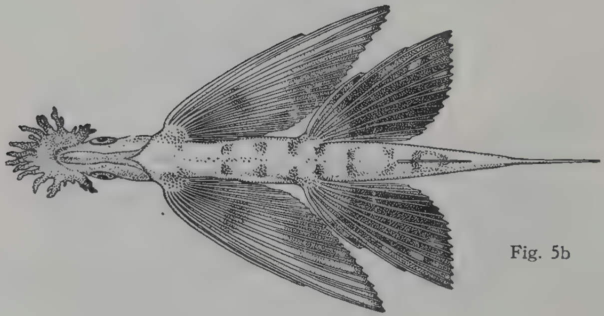


Fig. 5b

Fig. 6

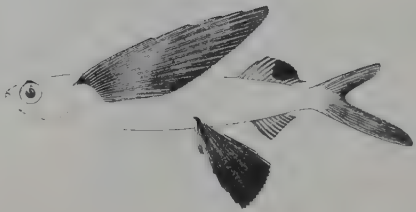


Fig. 7

Notes on the Flying-fishes of Hachijo Island, with Nomenclatorial Remarks on the Flying-fishes of the Mainland of Japan and Hokkaido. II. *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus.* (With Additional Notes on *Prognichthys agoo*) *Continued from p. 202*

Tokiharu Abe

(Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, and Zool. Inst., Fac. Sci., Tokyo Univ.)

Visible portion of dorsal and anal fins. The relative height of the dorsal and anal fins changes greatly with advancing age, and the relative positions of the origins of these fins seem to vary to certain extent, although the anal origin is invariably behind the dorsal origin. Furthermore, the relative length of each fin-ray, especially that of the anteriormost fin-rays, varies considerably even in the adult. The change with age in the coloration of these fins is also very remarkable. It seems better to begin with the number of the fin-rays of the fins, which can easily be shown in table 3.

Table 3. Frequency distribution of the number of dorsal fin-rays (D) and that of anal fin-rays (A) in *Cypselurus pinnatibarbtus japonicus**

A \ D	12	13	14
9	1	1	1
10	7	14	1
11	7	20	4
12		1	1

The number of the anteriormost unbranched fin-rays in dorsal and anal fins is 1 or 2, oftener 1. Of the seven dorsal fins supported by 14 fin-rays, three have 2 unbranched fin-rays anteriorly; and of the two anal fins with 12 fin-rays, one has 2 unbranched fin-rays anteriorly. The 2nd, or the 3rd, and the subsequent fin-rays of the fins are branched, the last fin-ray usually being thick.

* Since this paper went to press, numerous specimens of *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* have been collected, of which the following have been examined in detail, and the results of the examination are incorporated hereafter:

Number of specimens	Total length (mm)	Fork length (mm)	Standard length (mm)	Sex	Maturity	Locality	Date of collecting, and remarks
1	410	343	322	♂	Testes fairly large	Manazuru	3~5/IV, '54. By a trap net
1	130		100			Off western coast of Hachijo I.	Night of 30~31/III, '54. Barbels reddish black. Bands of belly golden
1	132	112	105			〃	Night of 21~22/IV, '54. Barbelled
2	70, 95	59, 81	56.5, 75			〃	Night of 24~25/IV, '54. Barbelled

The relative height of the dorsal and anal fins, and more especially of the former, is remarkably great in the young of some 100 mm standard length. It may be of interest to compare the change with advancing age in the relative height of the dorsal fin in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* with that of its close ally, *C. pinnatibarbatus californicus*, which was dealt with by Hubbs and Kampa (1946). In the accompanying tables, the relative height of each fin-ray of the dorsal and anal fins in *japonicus* is first given (table 4), and the comparison of the highest dorsal fin-rays between the two forms just mentioned is made in table 5.

Table 4. Relative height of each fin-ray of dorsal (d) and anal (a) fins in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Specimen	Standard length (mm)		Height / Standard length ×100 of 1st ray	2nd ray	3rd ray	4th ray	5th ray	6th ray	7th ray	8th ray	9th ray	10th ray	11th ray	12th ray	13th ray
Cat. No. 9797, Abe	100	d	18	21	26	28	29	28	26	25	22	20	14	10	6
		a	8	11	12	11	11	10	9	8	7	5			
Cat. No. 8746, Abe	320	d	10	13	13+	13+	13	12	10	8	7	6	5	4	5
		a	6	8	x	7	6	5	5	4	4	4	4		
Cat. No. 8741, Abe	324	d	9	11	12	11	10	9	8	7	x	6	4	5	
		a	3	7	7	6	6	5	5	4	4	4	4		

Table 5. Comparison of the relative height of the highest dorsal fin-ray between *Cypselurus pinnatibatus japonicus* and *C. p. californicus*. The data for the latter form have been cited from Hubbs and Kampa, 1946, p. 203, table III.

japonicus: Specimen from	Standard length (mm)	Height of highest dorsal ray / Standard length ×100	*californicus*: Specimen from	Standard length (mm)	Height of highest dorsal ray / Standard length ×100
Hachijo I.	56.5	25	near La Jolla	4.5	0.3
〃	75	25	off San Diego	69	24
Ō-murodashi	90	26	27°40′ N, 116° 50′ W	164	19
〃	94	27			
Hachijo I.	100	29			
〃	105	29	27°30′ N, 115° W	194	14
Izu-shichito	157	24	〃	225	13
Hachijo I.	320	13	〃	228	14
〃	324	12	〃	242	12
			Catalina I. (Type)	300	11
			Southern California	305	10
			〃	308	11
			〃	309	10
			〃	310	13
			〃	311	11
			27° 30′ M, 115° W	328	10
			Southern California	330	10
			〃	345	9
			27° 30′ N, 115° W	349	10
			Southern California	350	10
			〃	326	9
			〃	378	10

As is seen from table 4, the relative height of the anal fin in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* is greater in the young than in the adult, but the diminution with advancing age is not so marked as in the dorsal fin.

The relative positions of the dorsal and anal origins are shown in table 6.

Table 6. Relative positions of dorsal and anal origins in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Standard length (mm)	Position of origin of anal fin: Below interspace between			
	3rd and 4th dorsal fin-rays	4th and 5th dorsal fin-rays	5th and 6th dorsal fin-rays	6th and 7th dorsal fin-rays
38.5		x		
56.5		x		
58	x			
64		x		
66			x	
74	x			
75		x		
87	x			
90		x		
94		x		
100			x	
105			x	
105			x	
157		x		
165	x			
305				x
310			x	
310			x	
310				x
318		x		
318				x
320			x	
320			x	
320				x
322				x
324		x		
327				x
332				x
333			x	
336			x	
336				x
336				x
338				x
342			x	
344			x	
344				x
346			x	
346				x
349			x	
352				x
352				x
354				x
355				x
360			x	
363			x	
364				x
366			x	
368				x
370			x	
375				x
380			x	

The dorsal and anal fins of the young are mostly blackish, only the outer margin of these fins and the proximal part of the anal being hyalne or whitish. In the adult, the anal fin is whitish, and the dorsal fin also loses the black color, only a black blotch remaining distally in the middlemost portion of the dorsal. This black blotch is however, sometimes not conspicuous.

Pectoral fin and pectoral girdle. The uppermost rudimertary fin-ray of the pectoral is very difficult to see without removing the skin and tendons covering it (fig. 8). Each half of this ray is proximally fused with each other while the distal end is separable from one another. The 2nd fin-ray from the top has hitherto been regarded as the uppermost unbranched fin-ray of the pectoral by predecessors and the present writer himself. It may be better for practical purpose to treat hereafter the uppermost rudimentary pectoral fin separately from the other pectoral fin-rays which are visible without removing the coverings at the proximal part of the fin. The writer tentatively denotes the uppermost rudimentary fin-ray by a itlicized small letter of the Roman numeral, *i*, and the next, unbranched, conspicuous fin-ray by a small letter of the Roman numeral, i. Thus the pectoral fin-formula is given as, *e. g.*, P. *i*+15 (i+14) (left); *i*+15 (i+14) (right), and so on. The 3rd fin-ray from the top (not excluding the uppermost rudimentary ray) and the lower fin-rays are all branched excepting for the lowermost one which is often unbranched. The frequency distribution of the number of the pectoral fin-rays is given in table 7. Whether the lowermost fin-ray is branched or unbranched, is not indicated in the table.

Table 7. Frequency distribution of the number of pectoral fin-rays (P) in ***Cypselurus pinnatibarbatus japonicus***

P					
left	*i*+14 (=i+13)	*i*+15 (=i+14)	*i*+14 (=i+13)	*i*+15 (=i+14)	*i*+16 (=i+15)
right	*i*+14 (=i+13)	*i*+14 (i=+13)	*i*+15 (=i+14)	*i*+15 (=i+14)	*i*+15 (=i+14)
Number of specimens	13	5	2	29	1

The change with advancing age in the relative length of the pectoral fin is not so marked as in the dorsal fin. In table 8 is shown the relative length of each fin-ray of the left pectoral of a young and an adult examples.

Table 8. Relative length of each fin-ray (excepting for the uppermost rudimentary fin-ray) of the left pectoral in ***Cypselurus pinnatibarbatus japonicus***

Specimen	Standard length (mm)	Length / Standard length ×100 of 1st ray	2nd ray	3rd ray	4th ray	5th ray	6th ray	7th ray	8th ray	9th ray	10th ray	11th ray	12th ray	13th ray	14th ray	15th ray
Cat. No. 9797, Abe	100	39	67	67	63	60	53	47	43	38	33	30	23	12	5	1
Cat. No. 8746, Abe	320	45*	66	72	68	63	56	48	42	38	34	30	25	15	7+	6

* The length of the uppermost rudimentary fin-ray is 15 mm, namely, 5 % of the standard length.

The coloration of the pectoral fin varies considerably even in the adult. The writer long wondered whether the adult taken in Sagami Bay by trap net in the daytime were different from those taken from Hachijo Island by gill-net in the night because of the difference in the coloration of the pectoral. When Dr. A. BRUUN visited Japan in December, 1953, the present writer talked to him about the point, and Dr. BRUUN kindly suggested that the pectoral fin of flying-fishes taken in the night might be darker in color than that of the same species taken in the daytime. Dr. BRUUN further suggested that the salinity of the sea might have some relation with the coloration of the pectoral fin of flying-fishes. On checking the relation between the catching method (gill-net operated in the daytime; trap net lifted early in the morning; trap net lifted at 3 or 4 p. m.; long-line operated in the daytime) and the coloration of the pectoral fin of *Cypselurus pinnatibabartus japonicus*, the writer has realized that with some exceptions, the suggestions by Dr. BRUUN hold true for this flying-fish. In fig. 2 is shown a right pectoral fin of an adult of *japonicus* taken in the night near Izu Shichitō (which include Hachijo Island) by gill-net. The fin, when folded and seen from outside, is light brownish violet, with a hyaline band along the posterior margin and with a hyaline area near the base. The ventral parts of the upper fin-rays are light. When expanded and seen from inside (or, from above), the fin is light brownish violet, the fin-rays (excepting for the lowermost ones) being darker than the membranes. The hyaline band along the posterior margin is fairly conspicuous. The light oblique area of the lower and proximal parts of the fin is not sharply bordered, and extends obliquely from the bottom to the membrane between the 6th and 7th (counted from top; excluding the uppermost rudimentary fin-ray) fin-rays. The hyaline band along the posterior margin of the fin is continuous with the light area just mentioned. In the majority of the examples of this form taken in the daytime near the coast of Sagami Bay, the pectoral fin is much lighter in color, the posterior hyaline hand and the light area below are apt to be overlooked. The specimen described in vol. iii, nos. 3/4/5, pp. 195, 196, was taken from open sea off Chikura in the daytime, and the coloration resembles those taken in the night near Hachijo.

The coloration of the pectoral fin changes considerably with advancing age. In the two non-barbelled young measuring 157 mm and 165 mm (fig. 3), respectively, in standard length, the pectoral fin is black posteriorly and dark brown proximally, leaving the intervening oblique and very narrow triangular area and the very narrow posterior margin white (suggestive of some other members of *Cypselurus* and *Hirundichthys speculiger*). The bottom of this light oblique area ventrally extends and is confluent with the light lowermost part of the fin. The fin-rays, and more especially the uppermost two (excepting for the rudimentary ray), are lighter than the membranes in the smaller specimen just mentioned.

In the barbelled young (figs. 4–6), the coloration of the pectoral fin is suggestive of the non-barbelled young mentioned above, but the black or brown area is mnch narrower; *e. g.*, in a specimen of 64 mm standard length (not figured), the pectoral

fin is mostly hyaline, with a few brown blotches near the posterior margin and near the center of the fin.

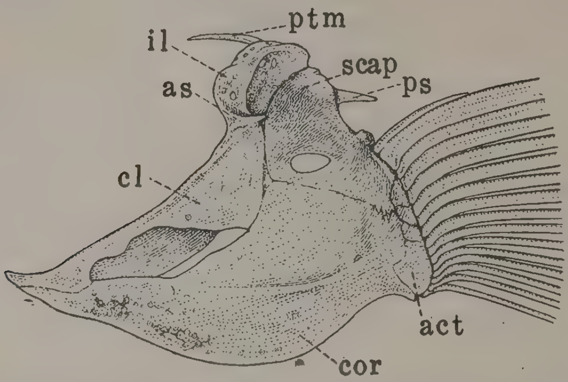


Fig. 8. Right pectoral girdle (exclusive of postcalvicle) and proximal part of pectoral fin of *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* taken near Hachijo I. in the night of March 7–8, 1953. Seen from inside. Total length of body 410 mm, standard length 322 mm. **act**: lowermost actinost. **as**: anterior spinule of clavicle. **cl**: clavicle. **cor**: coracoid. **il**: inner ledge of pocket of clavicle. **ps**: posterior spine of clavicle. **ptm**: posttemporal. **scap**: scapula. Drawn by M. Shirao and T. Abe.

So far, the present writer has examined the pectoral girdle of the genera *Oxyporhamphus, Exocoetus, Parexocoetus, Hirundichthys, Danichthys*, and the so-called *Cypselurus**, and has realized that there underlies a generealized "Cypselurus-type" of the girdle. Before describing the characteristics of the pectoral girdle in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*, some general accounts of the "Cypselurus-type" of the pectoral girdle are thought necessary. Fortunately, Starks (1930, p. 45) gave some description of the primary pectoral girdle of *Cypselurus pinnatibarbatus californicus*, and the present writer wishes here to give additional accounts of the "Cypselurus-type" of the pectoral girdle.

In the so-called *Cypselurus*, the supratemporal is absent. The posttemporal is rather short, slightly expanded at its ventral end, and its postero-ventral part covers the dorsal side of the supraclavicle, which is much smaller than the posttemporal. The former bone is ventrally attathed to the outer side of the dorsal ridge below the perforated "pocket" of the strongly developed clavicle. This pocket has anteriorly an inner "ledge" of varying width. The latter is sometimes perforated, probably irrespective of species. On the inside (namely, nearer to the vertebral column) of the ventral end of this ledge is a spinule of varying sharpness. This spinule is directed backwards, and invariably much smaller than the spine at the postero-dorsal corner of clavicle. The writer wishes here to propose the name "anterior spinule of the clavicle" for the former and "posterior spine of the clavicle" for the latter. The latter is also directed backwards and continuous with the dorsal ridge of the clavicle. The keel on the

* The pectoral girdle of *Prognichthys agoo* resembles that of the so-called *Cypselurus*. In the absence of the skeleton of *Prognichthys gibbifrons*, the writer is not able to mention about the pectoral girdle of *Prognichthys*; the adoption of *Prognichthys* for *agoo* is only for convenience' sake.

outside of the coracoid is long and fairly high, while the ridge (or ridges) on the inside of the bone is (or are) very low. The actinosts, four in number, are fitted so tightly to the scapula and coracoid, and posteriorly forming so smooth a contour, that it is with some difficulty to recognize each actinost at a glance. The postclavicle seems to be composed of only one bone, which is flexible and somewhat twisted.

Now, in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* the pectoral girdle is very rigid, and the "anterior spinule" and "posterior spine" of the clavicle are well developed. The inner ledge of the pocket of the clavicle is broader than in manny of the Japanese members of *Exocoetidae*. The keel on the outer side of the coracoid is also prominent, runs not parallel to the posterior margin of the outer wing of the clavicle, but downward and forward towards the postero-ventral margin of the outer wing of the clavicle, and terminates far from the latter. The inner ledge of the pocket of the clavicle is sometimes perforated.

Ventral fin and pelvic girdle. The number of the ventral fin-rays is 6, all the rays being branched and segmented. The coloration and relative length of the ventral fin changes with age. In table 9 is shown the relative length of each fin-ray of the ventral in a barbelled young and an adult examples. The barbelled young has much longer ventral fin than the adult does.

Table 9. Relative length of each fin-ray of the left ventral fin in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Specimen	Standard length (mm)	$\frac{\text{Length}}{\text{Standard length}} \times 100$ of					
		1st ray	2nd ray	3rd ray	4th ray	5th ray	6th ray
Cat. No. 9797, ABE	100	16	41	43	38	34	30
Cat. No. 8746, ABE	320	10	27	29	27	24	22

In the adult the ventral fin is mostly hyaline; only the dorsal side of the outer 5 fin-rays are brownish and the membranes near these rays are dotted with minute brownish violet dots. The innermost fin-ray is almost colorless. In the young examples, of 38.5–165 mm standard length, the ventral fin is brown or black, outer rays, posterior tips of the rays and proximal part being light (figs. 3–6). Occasionally a few light spots appear near the posterior corner of the fin.

The pelvic girdle of *Exocoetidae* offers good taxonomic criteria for higher groups. There is a generalized "Cypselurus-type" as in the case of the pectoral girdle. The pelvic girdle of the so-called *Cypselurus* is composed of a pair of separate pubics (fig. 9), whiche are free from the vertebral column and pectoral girdle. The pubic has a nearly vertical limb, which is compressed and sharply pointed dorsally, and a few basal horns which proximally connected with each other by a semitransparent thin bone,

* Counted from outside.

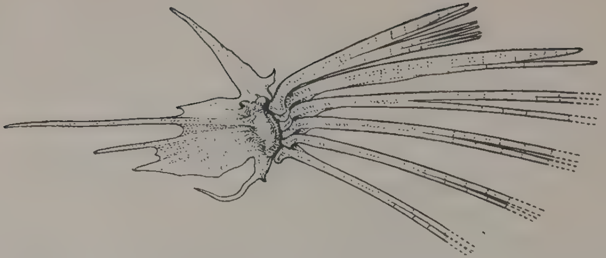


Fig. 9. Left half of pelvic girdle of *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* taken near Hachijo I. in the night of March 7–8, 1953. Seen obliquely from outside. Total length of body 410 mm, standard length 322 mm. Drawn by M. Shirao.

forming the "basal plate." The outermost horn of the basal plate is an attenuated rod, directed forwards, and connected by a semitransparent thin bone with the vertical horn of the pubic. The innermost horn of the basal plate of the pubic is curved, directing its tip outwards. The angle formed by the vertical horn and the basal plate is 90° or a little more, and the angle formed by the former and the outermost horn of the latter is 90° or a little less. It might be added here that the pelvic girdle of *Prognichthys agoo* belongs to the "Cypselurus-type". In *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* the number of the horns in the basal plate of the pelvic bone varies between 4 and 5. The outermost and innermost horn of the basal plate invariably retain the peculiar shape. The semitransparent thin bone connecting the vertical horn and the outermost horn of the basal plate is pointed anteriorly, and the postero-ventral corner of the vertical horn is flattened and has a few spines directed backwards and upwards.

The position of the ventral fin of *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* is farther backward than in the majority of the members of the so-called *Cypselurus*. In the adult the hind edge of the pubic is below the 24th vertebra (in 3 specimens), or 25th vertebra (in 5 specimens), or 26th vertebra (in 3 specimens). The preventral length in the adult is 58 % (in 2 specimens) and 60 % (in 2 specimens). The distance between the hind margin of the opercle and the ventral origin is [redacted] not less than the distance between the latter and the base of the anteriormost ventral rudimentary fin-ray of the caudal as in *Cypselurus opisthopus hiraii*. In a barbelled young of 100 mm standard length, the preventral length is 58.5 % of the standard length, and the distance between the hind margin of the opercle and the ventral origin (38 mm) is slightly less than the distance between the latter and the base of the auteriormost rudimentary fin-ray of the caudal (40 mm).

Caudal fin. The powerfulness and the shape of the caudal fin seem to differ from species to species in certain cases, but as this fin is apt to be damaged by the catching or handling at the market it is not easy to state for certain about the specific difference in the relative length of the upper and lower lobes of the fin. Here the measurement of only an example of the adult is given. The skin and tendons at the base of the fin has been removed, and the root of each fin-ray has been exposed. The length of the longest (namely, the uppermost branched) fin-ray in the upper lobe is 22 % of the

standard length, 328 mm, and the length of the longest (namely, the unbranched fin-ray just below the lowermost branched) fin-ray is 32 % of the standard length. The posterior contour is deeply forked, and the lower lobe exceeds the upper greatly in length and strength.

The number of the fin-rays of the caudal in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus* is vi/6/7/viii (in 1 specimen); vi/6/7/ix (in 1 specimen); vii/6/7/viii (in 2 specimens); vi/6/8/viii (in 1 specimen); vii/6/7/ix (in 5 specimens); viii/6/7 ix (in 1 specimen). The number of the epeurals is mostly 3; only in 1 example it was 2.

The colorationof the caudal fin changes with age; whereas the barbelled young have two large black blotches on the lower lobe of the caudal fin, the caudal fin in the nonbarbelled young of some 160 mm standard length and the adult is uniformly dark, occasionally the central part of the hind margin being a little darker. The blackish vertical band at the caudal base, which appears in some of the young examples, is absent in the adult.

Scales. This flying-fish is externally easily recongnized by the higher number of the predorsal and preventral scales coupled with the backward position of the ventral fin and the large size attained by the adult. The number of the predorsal and preventral scales varies considerably from individual to individual as will be seen from tables 10 and 11. The predorsal scales are counted from the one just above the root of the posterior divergent horns of the supraoccipital backwards to the smaller one covering the base of the 1st dorsal fin-ray. In counting the preventral scales, the scale on, or in front of, the line connecting the ventral origins is regarded as the last preventral scale, and the anteriormost scale on the isthmus is regarded as the starting point of the counting.

Table 10. Frequency distribution of the number of the predorsal scales in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Number of predorsal scales							
40	41	42	43	44	45	46	47
1	1	8	9	9	10	6	4

Table 11. Frequency distribution of the number of the preventral scales in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Number of preventral scales						
29	30	31	32	33	34	35
1	2	4	4	5	6	4

The number of scales in an oblique row above the lateral line and passing the dorsal origin is mostly ½+7 or ½+8, and the number of scales in an oblique row below the lateral line and passing the anal origin is mostly 2+½ or 3+½.

The scales on the top of the head are sometimes modified in texture, bearing conspicuous irregular ridges. The writer has not been able to state for certain whether they are correlated with the maturity or not.

Branchiostegals. The left branchiostegal membrane ventrally broadly covers the right one, and the number of the branchiostegals of the left side tends to be greater than on the right side as will be seen from table 12.

Table 12. Frequency distribution of the number of the branchiostegals in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

	Number of branchiostegals						
Left	11	11	11	12	12	12	13
Right	9	10	11	9	10	11	11
	2	4	1	1	5	2	1

Gill-rakers. The gill-rakers on the first arch in the present form is rather less numerous than in the majority of the other Japanese commercial species of flying-fishes. The rakers on the upper limb (epibranchial) increase in length downwards, and those of the lower limb (ceratobranchial and hypobranchial) diminish in length downwards. The rakers below the joint of the upper and lower limbs are rather strong, not slender, and spaced fairly widely apart. The upper-most rakers of the upper limb and the lowermost rakers of the lower limb are sometimes rudimentary. The frequency distribution of the number of the gill-rakers on the first arch is given in table 13. Whereas the number of the branchiostegals on the left side tends to exceed that of the right side, the number of the gill-rakers on the first arch in the present form seems not to differ between the two sides in the same direction.

Table 13. Frequency distribution of the gill-rakers on the first arch in *Cypselurus pinnatibarbatus japonicus*

Left	6+14	7+14	6+15	6+14	6+15	7+15	7+15	7+15	7+15	7+15	7+16	7+16	7+16	7+16
Rtigh	6+15	7+14	6+15	7+15	6+16	6+15	6+16	7+15	7+16	6+17	6+16	6+17	8+16	7+17
	1	1	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1

*Dentition.** In the present form teeth are present only on the jaws. The jaw teeth are long and usually conical; occasionally the tip is slightly expanded and provided

* As for the dentigerous pharyngeal bones, Regan's figure (1911) of *Exocoetus lineatus* well agrees with *japonicus*.

with one or two outer extra cups. The teeth are arranged in a narrow band anteriorly, and the latter tapers laterally and posteriorly, finally becoming a single row of the teeth. The number, shape and size of the teeth seem to vary considerably from individual to individual. In a few adult examples the length of the anterior teeth have been measured. The ratio of the length of these teeth to standard length was 0.0013–0.0022. In the barbelled young also the jaw teeth are long and very conspicuous.

Skull. The skull of the flying-fishes sometimes differ in shape from genus to genus, but there underlies a generalized "Flying-fish-type" of skull. *Oxyporhamphus* and *Parexocoetus* are considerably far apart from *Exocoetus, Cypselurus, Hirundichthys* and *Danichthys* in cranial features, the latter four genera having much in common in these features. But among the so-called *Cypselurus* are found considerable variation from species to species in regard to the skull. GREGORY's account (1933) of the skull of *Exocoetus volitans* LINNAEUS (given a *Halocypselus evolans*), and STARKS' account (1926) of the bones of the ethmoid region of *Parexocoetue brachypterus, Cypselurus bahiensis* and *C. pinnatibarbatus californicus* well apply to the "Flying-fish-type" of skull. The writer wishes here to give some supplementary notes. In the Japanese members of the so-called *Cypselurus*, the bony interorbital space is usually broad, flat or slightly concave, and the lateral margin of the cranium is incised just behind the sphenotic. The posteriorly projecting horns of the supraoccipital are well developed and usually bifid; occasionally there is an extra horn (fig. 10). The spine of the epiotic and that of the exoccipital is either present or absent depending on species. But the development of these spines is by no means symmetrical on both sides (fig. 10). In *japonicus* (fig. 10) the horns and spines just mentioned are all well developed; the roof of the cranium is never concave; the expanded pterotic slopes down from its joint with the frontal.

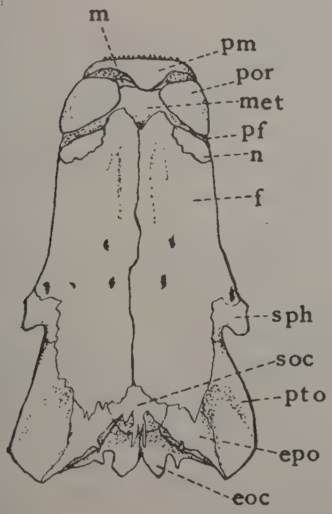


Fig 10. Dorsal view of skull of *Cypselurus pinnatibabatus japonicus* taken near Hachijo. I. in the night of March 7–8, 1953. Total length of body *ca.* 405 mm. **eoc**: exoccipital. **epo**: epiotic. **f**: frontal. **m**: maxillary. **met**: mesethmoid. **n**: nasal. **pf**: prefrontal. **pm**: premaxillary. **por**: preorbital. **pto**: pterotic. **soc**: supraoccipital. **sph**: sphenotic. Drawn by T. ABE.

Barbel, and bands on belly of the young. Probably correlated with the large size attained by the adult, the present form retains the juvenile characters (such as the coloration of the fins and belly, presence of the large fimbricate barbel of the lower jaw, unusually great height of the dorsal fin) till a considerably late stage of development; the young of 132 mm total length have still the barbel, and the young of 200 mm total length have still very high dorsal fin and juvenile color pattern of the pectoral and ventral fins. Prior to preservation the barbel is reddish black, and the bands on the ventral side of the body, about nine in number, are golden and blackish. In earlier stages the barbel is fleshy (figs. 5a, 5b, 6), and later, at the total length of some 127 mm (figs. 4a, 4b, 4c), it becomes much thinner.

Remarks on taxonomic postion:

As FRANZ considered, the present form closely resembles *Cypselurus lineatus* (VALENCIENNES) of the Atlantic. The latter name, as HUBBS and KAMPA (1946) pointed out, is believed to be a synonym of *Cypselurus pinnatibarbatus pinnatibarbatus* (BENNETT). On the other hand, *japoniaus* is very close to *Cypselurus pinnatibarbatus californicus* (COOPER). In the absence of specimens of the close allies of *japonicus* from the Atlantic and the eastern Pacific, only the following might be stated here: *californicus* seems to spawn in August (after HUBBS and KAMPA, 1946, p. 191) while *japonicus* spawns during February-May near Hachijo I., where the surface tempertaure of the sea is then just rising from the minimum; the surface temperature near Hachijo at the beginning of the spawning is about 19°C. The diameter of the eggs seem to differ between the two forms whereas the number and distribution of the filaments of the eggs seem not to differ. The present writer wishes to turn to these points elsewhere.

Additional notes on *Prognichthys agoo*

In 1953 *Prognichthys agoo* was first shipped to the Central Wholesale Market of Tokyo from Nishizaki (Tateyama City, Chiba Pref.) on May 25. The number of the fish was very small, and the size was a little smaller than the adult predominating in number in summer. They were taken by a trap net. The adult of this species were taken in considerable quantity during July 10 ～ middle of September, 1953, near Izu-shichitō. In September, 1953, this species was shipped to Tokyo from the southern parts of Chiba Pref. During the summer of the same year, the writer saw several examples of some 200–250 mm total length which differed considerably in coloration from the adult (*vide* p. 199, explanation of fig. 7). Most striking was the presence of a black spot of the pectoral fin in some specimens. Unfortunately the figure has been reproduced very poorly. In some other specimens the black spots of the pectoral are more than 1 in number.

In 1954, a few adult examples of this species were first seen at the Central Wholesale Market of Tokyo on July 6. They were shipped from Izu-shichitō.

On September 5, 1954, this flying-fish was taken by a trap net off Tamanoura (Gotō Is.; west of Nagasaki), from which two adult examples were collected and sent to the writer by Mr. S. Mito (Kyushu Univ.). The writer wishes here to express his sincere thanks for Mr. Mito's kindness. Whereas this flying-fish is taken commercially along the Pacific coasts of the southern parts f the mainland of Japan, its occurrence near Nagasaki seems not to have been recorded since the original description by Temminck and Schlegel*.

References

Abe, T. 1953. Notes on the flying-fishes of Hachijo Island, with nomenclatorial remarks on the flying-fishes of the mainland of Japan and Hokkaido. I. "Tobi-uo", *Prognichthys agoo*. Rec. Oceanogr. Work. Japan, n. s., i, pp. 115–123.

Bennett, E. T. 1831. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 213.

Breder, C. M. Jr. 1928, 1938. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 213.

Bruun, A. Fr. 1933, 1934, 1935, 1937. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 214.

Clothier, C. R. 1950. A Key to some Southern California fishes based on vertebral characters. State of Calif. Fish Bull., no. 79, 83 pp.

Cooper, J. G. 1864. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 214.

Cuvier, G. and Valenciennes, A. 1846. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 214.

Fowler, H. W. 1944. *vide* Abe, 1953, p. 123.

Franz, V. 1910. Die japanischen Knochenfische der Sammlung Haberer und Doflein. Abhandl. math. -phys. Klasse d. K. Bayer. Akad. Wiss., Suppl. -Bd. iv, Abhand. 1, pp. 1–135, pls. 1–11.

Gregory, W. K. 1933. Fish skull: a study of the evolution of natural mechanisms. Trans. Amer. Phil. Soc., n. s., xxiii, pt. 2, pp. i–vii, 75–481.

Günther, A. 1866, 1889. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 215.

Hubbs, C. L. and Kampa, E. M. 1946. *vide* Abe, 1953, p. 123.

Imai, S. 1952. *vide* Abe, 1953, p. 123.

Jordan, D. S., Tanaka, S. and Snyder, J. O. 1913. A catalogue of the fishes of Japan. Journ. Coll. Sci., Tokyo Imp. Univ., xxxiii, art. 1, pp. 1–496.

Kamohara, T. 1950. Description of the fishes from the provinces of Tosa and Kishu, Japan. 3+288+5+48+27 pp. In Japanese. Kōchi.

Lasdin, W. 1913. Der Bau und die Entwicklung des Schädels von *Exocoetus*. Trav. Soc. Imp. Nat. St. Petersb., xliv, no. 1, pp. 12–26, 1 pl; no. 2/3, pp. 75–90, 110–112. In Russian, with German summary.

Lowe, R. T. 1841. *vide* Hubbs and Kampa, 1946, p. 216.

Regan, C. T. 1911. The classification of the teleostean fishes of the order Synenthognathi. Ann. Mag. Nat. Hist., ser. 8, vol. vii, pp. 327–335, pl. 9.

Starks, E. C. 1901. Synonymy of the fish skeleton. Proc. Wash. Acad. Sci., iii, pp. 507–539, pls. 63–65.

——1926. Bones of the ethmoid region of the fish skull. Stanford Univ. Publ., Univ. Ser., Biol. Sci., iv, no. 3, pp. 139–338.

——1930. The primary shoulder girdle of the bony fishes. Stanford Univ. Publ., Univ. Ser., Biol.

* Dr. M. Boeseman has kindly informed the writer (personal correspondence) that the material used by Temminck and Schlegel was collected at Nagasaki and vicinity.

Sci., vi, no. 2, pp. 147–239.

Takano, H. 1954. Preliminary report on the marine diatoms from Hachijō Island, Japan. Bull. Japan. Soc. Sci. Fisher., xix, no. 12, pp. 1189–1196.

Tanaka, S. 1913. Figures and descriptions of the fishes of Japan, xii, pp. 199-214, pls. 56–60; xiii, pp. 215–230, pls. 61–65. Tokyo.

Tomiyama, I. and Abe, T. 1953. Figures and descriptions of the fishes of Japan, xlix, pp. 961–982, pls. 191–195. Tokyo.

The Food of the Mackerel Taken near Ôshima Island in 1953

日本水産学会誌
第二十巻 第八号 別刷
昭和二十九年十二月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 8 December. 1954

The Food of the Mackerel Taken near Ôshima Island in 1953

Hideaki TAKANO
(Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory)

Since April, 1953, studies on the Japanese mackerels, *Pneumatophorus japonicus* (HOUTTUYN) and *P. tapeinocephalus* (BLEEKER), have been carried out at the Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory. The present writer has examined the food, and found many pelagic animals and plants in the stomachs of the fishes. The composition of food organisms was not consistent but varied with age, time and place where mackerels had been caught. The stomach usually contained varied organisms, but it was often recognized that some species of organisms was predominating markedly in number.

The materials used are the stomach contents of *P. japonicus* caught by the bottom gill net near the coast of Habu Village (34°40.8′N, 139°26.7′E), Ôshima Island, one of the Izu Islands, at three times in May and July, 1953. It is presumed from the observation on their otoliths undertaken by Mr. E. YOSHIHARA (Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory) that the mackerel schools consisted mainly of four and five year classes. The size, sex, weight of the mackerel are shown in Table 1.

The stomach contents preserved in 5 % formalin were weighed (Table 1) and their specific composition was examined. The maximum wet weight, 41.6 g, among the three groups was met with of a fish caught on May 9, 1953. Needless to say,

Table 1. Record of fish groups examined.

Group	Date of catching	Number of fish examined	Fork length (cm)			Body weight (g)			Wet weight of stomach contents (g)		
			max.	mean	min.	max.	mean	min.	max.	mean	min.
A	May 9, '53	10 (♀6, ♂4)	40.0	37.1	33.2	820	695	580	41.6	25.0	6.1
B	May 10, '53	10 (♀6, ♂4)	39.6	37.7	36.0	800	631	570	27.0	12.3	5.0
C	July 21, '53	48 (♀31, ♂10, ?7)	41.8	38.4	33.4	970	692	400	21.1	5.6	0.7

the recognition of presence was made by the remaining parts of food organisms as many individuals in the stomachs were more or less damaged. Table 2 shows the frequency of the sample in which each kind of animals was included, with the highest number of individuals picked up from a sample.

The sixty eight samples showed a similar characteristic on the whole. For the mysid, *Gastrosaccus vulgaris* NAKAZAWA (1910) was found in all samples, and a number of the individuals constituted the majority of the samples. Many sorts of crustaceans and others, *e. g.*, larvae of decapods, amphipods, calyconects, tunicates,

Received Nov. 24, 1954.
Contribution B No. 183, from the Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory.

Table 2. Frequency of the sample in which each kind of animals was included. The number in parentheses shows the highest individual number of the kind picked up from a sample.

	Group	A	B	C
	Number of stomach analyzed	10	10	48
Crustacea	*Gastrosaccus vulgaris* NAKAZAWA	10 (2400)	10 (1500)	48 (800)
Crustacea	Euphausiacea	—	—	4 (12)
Crustacea	Decapoda (adult and larva)	3 (2)	1 (1)	5 (2)
Crustacea	Amphipoda	10 (13)	2 (1)	5 (3)
Crustacea	Isopoda	2 (11)	—	8 (30)
Crustacea	Ostracoda	—	—	3 (3)
Crustacea	Eucopepoda	4 (3)	—	1 (1)
Crustacea	Branchiura (larva)	—	—	1 (1)
Tubulario-anthomedusae		1 (1 colony)	—	—
Calyconecta		4 (1)	2 (1)	5 (1)
Polychaeta		1 (1)	—	—
Tunicata		6 (13)	1 (5)	11 (11)
Cephalopoda (larva)		1 (1)	—	1 (1)
Fish young		4 (4)	4 (2)	14 (8)
Fish egg		2 (2)	—	—

young fishes, were involved, but they did not show such dominance as the mysid often did. Other species of mysids were absent in the material.

Species of euphausiids were found only in four samples of Group C (*cf.* Table 1 and 2). Decapods, which were mostly of larval stage, amphipods, calyconects, and tunicates, were present in all groups, and the last named appeared in considerable numbers. Among amphipods, *Hyperia* spp. occurred dominatingly in Group A. Isopods were found in Group A and Group C; the former group contained only *Aegathoa oculata* SAY, but *Cleantis planicauda* (BENEDICT) was predominating over it in the latter group. Copepods were rarely observed, and phytoplankton were not notable in the materials. Some number of fish youngs existed in all groups. Among them, *Trachurus japonicus* (TEMM. & SCHL.) was found in all groups. Species of Myctophidae were found in Group A (1 individual), and in Group C up to 8 individuals of myctophids in a stomach. The animal species which have hitherto been identified are listed in Table 3.

Table 3. List of animal species found in the samples.

	CRUSTACEA
Mysidacea:	*Gastrosaccus vulgaris* NAKAZAWA
Euphausiacea:	*Euphausia pacifica* HANSEN*
Decapoda:	*Lucifer reynaudii* MILNE-EDWARDS
Amphipoda:	*Oxycephalus porcellus* CLAUS
	Phronima pacifica STREETS
	Hyperia sibaginis STEBBING
Isopoda:	*Aegathoa oculata* SAY
	Cleantis planicauda (BENEDICT)
Copepoda:	*Calanus helgolandicus* (CLAUS)
	Eucalanus subcrassus GIESBRECHT
	HYDROZOA
Calyconecta:	*Diphyes appendiculata* ESCHS.
	TUNICATA
Ascidiacea:	*Pyrosoma atlanticum* PÉRON
Thaliacea:	*Salpa* spp.
	FISH YOUNG**
Trachurus japonicus (TEMM. & SCHL.)	
Engraulis japonicus TEMM. & SCHL.	
Sardinops melanosticta (TEMM. & SCHL.)	
Polyipnus sp.	
Myctophidae spp.	
Blenniidae sp.	

* Identified by Mr. Y. KOMAKI.
** Identified by Dr. T. ABE.

It has been emphasized by many authors that planktonic crustaceans are more important as the food of mackerels exceeding fish youngs, phytoplankton, etc. For instance, on the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.), BULLEN (1908) observed in the Bristol Channel and the English Channel, NILSSON (1914) in Swedish waters, BIGELOW and WELSH (1925) in the Gulf of Maine, STEVEN (1949) in the waters near Plymouth and the Celtic Sea, and SETTE (1950) on the Atlantic coast of North America, that the mackerel feeds chiefly on crustaceans. As for Japanese mackerels, similar tendency was recognized by many authors in the neighbouring waters of Korea and the Japan Sea, recording such crustaceans as the amphipod, *Parathemisto oblivia*, the euphausiid, *Euphausia pellucida* (KAKIMOTO, 1932, Hyôgo-ken Fisheries Experimental Station, 1934 and 1935), and the euphausiid, *Euphausia pacifica* HANSEN (NAKAI, 1942) to be the most important food, but the writer has not been able to find any available paper dealing with the stomach contents of the mackerels of the Pacific coast of Japan.

The results of the present investigation, which are probably the first information from the Pacific side, also support the importance of crustaceans as the food of the fish. It is further inferred that the considerable number of the mysid, *Gastrosaccus vulgaris*, swarmed in the coastal waters of Ôshima Island in the summer. However, it is not certain whether the event is a yearly local characteristic or not.

The writer is greatly indebted to Dr. Tokiharu ABE (Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory) for his invaluable advice and encouragement, to Mr. Masaharu

IGARASHI (Ôshima Branch of the Tôkyô-to Fisheries Experimental Station) for aid in collecting the materials, and to Mr. Yuzô KOMAKI (Faculty of Agriculture, Tôkyô University) for identifying a part of the species included. Thanks are also due to the members of the Mackerel Resources Division of the Tôkai Regional Fisheries Research Laboratory for cooperation with the writer.

References

BIGELOW, H. B., and WELSH, W. W., 1925: Fishes of the Gulf of Maine. Bull. Bur. Fish., U.S. Dept. Commerce, vol. 40, pt. 1, 567 pp., 278 figs.

BULLEN, G. E., 1908: Plankton studies in relation to the western mackerel fishery. Jour. Mar. Biol. Assoc., vol. 8, no. 3, pp. 269—302, pls. 18—23.

Hyôgo ken Fisheries Experimental Station, 1934 and 1935: Kita nihonkai saba haenawa gyogyôshiken. In Japanese. Hyôgo-ken Suisan Shikenjô Hô, no. 41, pp. 3—4; no. 42, pp. 1—4; no. 43, pp. 1—2; no. 54, pp. 1—2; no. 55, pp. 1—2.

KAKIMOTO, H., 1932: Shôwa 6 nendo saba nagashiami-gyogyôshiken no keika ni tsuite. In Japanese. Zenranandô Suisan Shikenjô Hôkoku, no. 5, pp. 27—31.

NAKAI, Z., 1942: The chemical composition, volume, weight and size of the important marine plankton. In Japanese with English abstract. Jour. Oceanogr. Soc. Jap., vol. 1, nos. 1—2, pp. 45—55.

NAKAZAWA, K., 1910: Notes on Japanese Schizopoda. Annot. Zool. Jap., vol. 7, pp. 247—261, pl. 8.

NILSSON, D., 1914: A contribution to the biology of the mackerel. Investigations in Swedish waters. Publ. Circ., Cons. Perm. Intern. Exp. Mer, no. 69, 67 pp.

SETTE, O. E., 1950: Biology of the Atlantic mackerel (*Scomber scombrus*) of North America. Part II. Migrations and habits. Bull. Fish and Wildlife Serv., U. S. Dept. Interior, vol. 51, pp. 251—358.

STEVEN, G. A., 1949: Contributions to the biology of the mackerel, *Scomber scombrus* L. II. A study of the fishery in the south west of England, with special reference to spawning, feeding and 'fishermen's signs'. Jour. Mar. Biol. Assoc., vol. 28, no. 3, pp. 555—581.

測定誤差の頻度分布への影響—I. 体長組成について

田 中 昌 一
(東海区水産研究所)

Effect of Measurement Error on Observed Frequency Distribution—I Length Composition

Syoiti TANAKA

If an observed length of fish is affected by error of measurement, the frequency distribution obtained would be deformed from the original one. The relation between observed length x and exact length ξ may be assumed to be $x=\xi+\delta$, and also the distribution of error δ may be assumed to be normal with a constant variance of σ_E^2. Then the expected frequency curve obtained from the observation would be given by the formula (4). Three types of distribution chosen here as examples are normal, exponential and rectangular. In the normal type, no bias appears except for an increase in variance by σ_E^2. On the contrary, in the exponential and rectangular types, considerable biases are introduced by the error. However, when compared with the sampling variance, the biases are not so serious that the effect may be negligible for practical uses.

標本誤差と測定誤差

漁獲物の体長組成を推定する時の標本誤差については，今までにも，幾人かによつて論ぜられているが，体長測定の誤差の影響にふれたものはほとんどみあたらない[1]。勿論，実際の面において，体長測定の誤差は年令査定の誤差等にくらべれば，とるにたりないものであろうが，標本誤差とは異り，結果に偏りを与えるという点で重要である。たとえば次の様な問題がある。従来，体長組成を表示するための階級の区切り方については，慣習的に，全体の体長範囲が 10～20 程度の階級にわけられる様にきめていた。しかし，ガタクチイワシの特殊な例[2,3]では，分布範囲が 2cm 程度であり，もしこれを 10～20 の階級にわけるとすると，階級巾が 1～2 mm となり，測定誤差の影響がはいつて来ると考えなければならない。1 mm の階級巾がはたして意味があるかどうかが問題である。

母集団の分布型の例として，正規分布，指数分布及び矩型分布をとりあげ，それぞれについて測定誤差の影響を論ずる。正規分布は最も基本的分布型であり，指数分布は体長組成中にしばしばみられる。又矩型分布は，一般に任意の分布型をヒストグラムで近似して論ずる時に必要である。

測定誤差に標本誤差が加わる場合には二つの誤差が独立であると仮定する事によつて，全く別個に取扱う事が出来る。したがつて，ここでは標本誤差についてはふれない。

測定誤差をともなう場合の頻度分布のかたより

確率密度 $f(\xi)$ をもつて分布する変量 ξ を測定して，x なる値を得たとすると，x の分布は，$f(\xi)$ 及

1954 年 7 月 13 日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第 154 号

び測定誤差の分布 $\phi(x-\xi|\xi)$ によつて与えられる。即ち，$x=\xi+\delta$ とおくと，x の確率密度は

$$F(x)=\int_D f(\xi)\phi(\delta\,|\,\xi)d\xi \tag{1}$$

となる。ここで D はξ の全変域をあらわしている。ϕ の型として誤差函数：

$$\phi(\delta\,|\,\xi)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_E(\xi)}e^{-\frac{\delta^2}{2\sigma_E{}^2(\xi)}} \tag{2}$$

を仮定すると，(1) 式は

$$F(x)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_D \frac{f(\xi)}{\sigma_E(\xi)}e^{-\frac{\delta^2}{2\sigma_E{}^2(\xi)}}\,d\xi \tag{3}$$

となり，さらに $\sigma_E(\xi)$ が ξ によらず一定で σ_E に等しいとすると，

$$F(x)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_E}\int_D f(\xi)e^{-\frac{\delta^2}{2\sigma_E{}^2}}\,d\xi \tag{4}$$

となる。次に実際の例を示そう。

1) $f(\xi)$ が正規分布の場合

ξ,δ が共に独立に正規分布をする場合には，よく知られている様に，x は，ξ の平均を m，分散を σ^2 であらわして，$\sigma^2+\sigma_E{}^2$ を分散とし m を平均とする正規分布をする。観測によつて期待される x の分布と ξ の分布との差は，分散が $\sigma_E{}^2$ だけ大きくなる事である。一般には $\sigma_E{}^2\ll\sigma^2$ であるから問題にならない。たとえば、前出のカタクチイワシの例で $\sigma=2.5$mm としても，測定値がだいたい ±1mmの巾の中におちるものとすれば，$\sigma_E=0.5$mm とおいて，分散がわずかに4％，標準偏差で約2％増加するにすぎない。

2) $f(\xi)$ が指数分布の場合

ξ が ξ_0 から $+\infty$ までの間で指数分布をしている時には，

$$f(\xi)=ke^{-k(\xi-\xi_0)} \tag{5}$$

とおいて

$$F(x)=\frac{k}{\sqrt{2\pi}\sigma_E}\int_{\xi_0}^{\infty}e^{-\frac{(x-\xi)^2}{2\sigma_E{}^2}-k(\xi-\xi_0)}d\xi \tag{6}$$

となる。積分すると

$$F(x)=e^{\frac{k^2\sigma_E{}^2}{2}}\cdot ke^{-k(x-\xi_0)}\left[\frac{1}{2}-\varphi\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)\right] \tag{7}$$

但し，

$$\frac{1}{2}-\varphi(t)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\int_t^{\infty}e^{-\frac{t^2}{2}}dt \tag{8}$$

である。(7) 式で $ke^{-k(x-\xi_0)}$ は$f(\xi)$ の ξ を x で入れかえただけであるから

$$e^{\frac{k^2\sigma_E{}^2}{2}}\left[\frac{1}{2}-\varphi\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)\right]$$

がくいちがいの程度をあらわしている。$e^{\frac{k^2\sigma_E{}^2}{2}}$ は常数であり，[ ] の中は $\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)$ が3以上になると，ほとんど1に近くなる。

対数をとつて減少係数 k を推定する時には，

$$\frac{d\log_{10}F(x)}{d\left(x-\xi_0\right)}=-0.4343k\sigma_E+0.4343\frac{\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\exp\left\{-\frac{1}{2}\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)^2\right\}}{\frac{1}{2}-\varphi\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)} \tag{9}$$

となるので第2項の分だけ小さく見積られる事になる。いろいろな $k\sigma_E$ の値について $e^{\frac{k^2\sigma_E{}^2}{2}}$ 及び (9) 式

の第2項が第1項のそれぞれ 1, 1/10, 1/100 となる $\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}$ の値を Table 1 に示す。考えられる $k\sigma_E$ の範囲に於ては，$x-\xi_0$ が $4\sigma_E$ 以上になれば，k 推定に関しては問題にならなくなるが，$e^{\frac{k^2\sigma_E^2}{2}}$ の値については，必ずしもその影響が小さいとはいえない。

3) $f(\xi)$ が矩形分布の場合

a から $a+h$ の間で $f(\xi)$ が一定で，$1/h$ に等しい時には

$$F(x)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}\sigma_E h}\int_a^{a+h} e^{-\frac{(x-\xi)^2}{2\sigma_E^2}}\,d\xi \qquad (10)$$

となる。(10) 式は，指数分布の時と同様に $\varphi(t)$ を用いてあらわすと，

$$F(x)=\frac{1}{h}\left[\varphi\left(\frac{x-a}{\sigma_E}\right)-\varphi\left(\frac{x-a-h}{\sigma_E}\right)\right] \qquad (11)$$

となる。これを図示すると Fig. 1 の様になる。

Table 1. Bias of observed distribution from original exponential type. Multplied constant $e^{\frac{k^2\sigma_E^2}{2}}$ and ordinates $\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}$ which give 0.01, 0.1 and 1.0 of r. $r=\dfrac{\frac{1}{\sqrt{2\pi}}\exp\left\{-\frac{1}{2}\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)^2\right\}}{k\sigma_E\left\{\frac{1}{2}-\varphi\left(-\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}+k\sigma_E\right)\right\}}$

$k\sigma_E$		0.01	0.1	0.5	1.0	2.0
$e^{\frac{k^2\sigma_E^2}{2}}$		1.000	1.005	1.13	1.65	7.39
	$r=$					
$\frac{x-\xi_0}{\sigma_E}$	1.0	2.1	1.8	1.0	0.7	0.4
	0.1	2.9	2.8	2.6	2.7	3.2
	0.01	3.6	3.6	3.4	3.7	4.4

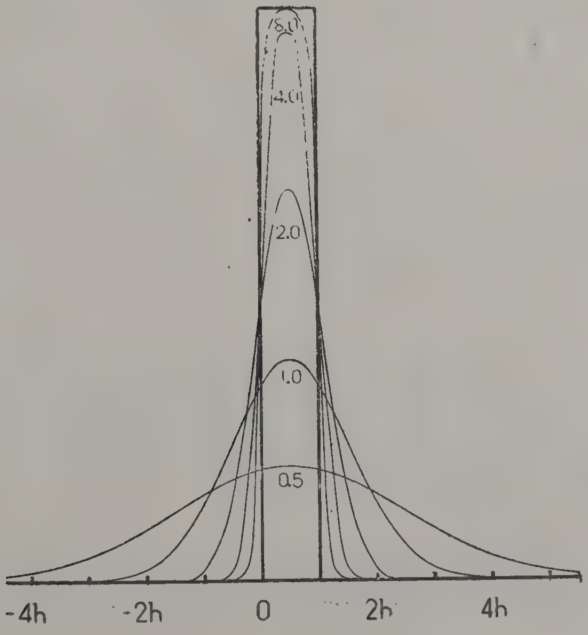


Fig. 1. Distribution of observed values (thin lines) which are derived from original rectangular distribution (thick line), for various values of h/σ_E (indicated in the figure).

x 軸を間隔 h で階級にわけたときに，階級 $a+ih\sim a+(i+1)h$ に落ちる確率 p_{a+ih} は (11) を積分して

$$p_{a+ih}=\int_{a+ih}^{a+(i+1)h}\frac{1}{h}\left[\varphi\left(\frac{x-a}{\sigma_E}\right)-\varphi\left(\frac{x-a-h}{\sigma_E}\right)\right]dx$$

$$=\frac{\sigma_E}{h}\int_{\frac{ih}{\sigma_E}}^{\frac{(i+1)h}{\sigma_E}}\varphi(t)dt-\frac{\sigma_E}{h}\int_{\frac{(i-1)h}{\sigma_E}}^{\frac{ih}{\sigma_E}}\varphi(t)dt$$

とあらわす事が出来る。ここで

$$\int_0^t\varphi(t)dt\equiv\Phi(t) \tag{12}$$

とおくと

$$p_{a+ih}=\frac{\sigma_E}{h}\left[\Phi\left(\frac{(i+1)h}{\sigma_E}\right)+\Phi\left(\frac{(i-1)h}{\sigma_E}\right)-2\Phi\left(\frac{ih}{\sigma_E}\right)\right] \tag{13}$$

となる。$\Phi(t)=\Phi(-t)$，$\Phi(0)=0$，であることを考慮して，$i=0,\pm1,\pm2,\cdots\cdots$について (13) 式を実際にかいてみると

$$i=0\quad:\quad p_a=\frac{\sigma_E}{h}2\Phi\left(\frac{h}{\sigma_E}\right)$$

$$i=\pm1:\quad p_{a\pm h}=\frac{\sigma_E}{h}\left[\Phi\left(\frac{2h}{\sigma_E}\right)-2\Phi\left(\frac{h}{\sigma_E}\right)\right]$$

$$i=\pm2:\quad p_{a\pm2h}=\frac{\sigma_E}{h}\left[\Phi\left(\frac{3h}{\sigma_E}\right)+\Phi\left(\frac{h}{\sigma_E}\right)-2\Phi\left(\frac{2h}{\sigma_E}\right)\right]$$

$$\cdots\cdots\qquad\cdots\cdots\cdots\cdots$$

となる。$a-ih$ から $a+(i+1)h$ までの間に落ちる確率は (13) 式から

$$_{-ih}p_{(i+1)h}=\frac{\sigma_E}{h}2\left[\Phi\left(\frac{(i+1)h}{\sigma_E}\right)-\Phi\left(\frac{ih}{\sigma_E}\right)\right] \tag{14}$$

である事が容易に知れる。これ等の値を Table 2 に示す*。

Table 2. Distribution of observed values which are derived from original rectangulan distribution.

h/σ_E	0.5		1.0		2.0		4.0		8.0	
i	p_{a+ih}	$_{-ih}p_{(i-1)h}$	p_{a+ih}	$_{-ih}p_{(i+1)h}$	p_{a+ih}	$_{-ih}p_{(i+1)h}$	p_{a+ih}	$_{-ih}p_{(i+1)h}$	p_{a+ih}	$_{-ih}p_{(i+1)h}$
0	0.195	0.195	0.369	0.369	0.610	0.610	0.801	0.801	0.900	0.900
1	.173	.542	.241	.850	.191	.992	.100	1.000	.050	1.000
2	.121	.784	.067	.984	.004	1.000	.000	1.000	.000	1.000
3	.066	.917	.008	.999	.000	1.000				
4	.029	.974	.000	1.000						
5	.010	.994								
6	.003	.999								
7	.001	1.000								

矩型分布の場合の偏りの問題よ、任意の連続分布をヒストグラムで近似する際に，より広範な応用がある。或る区間 $a\sim a+h$ における観測値頻度の期待値 F_a は，区間 $a+jh\sim a+(j+1)h$ での母集団の頻度を f_{a+jh} で表わすと

* $\varphi(t)$ の値は多くの統計の本に出ている。たとえば文献 4)。$\Phi(t)$ の値については表がないので，$\varphi(t)$ を用いて数値積分を行った。

$$F_a = f_a p_a + (f_{a-h} + f_{a+h}) p_{a+h} + (f_{a-2h} + f_{a+2h}) p_{a+2h} + \cdots\cdots$$
$$= f_a p_a + \sum_{j=1}^{\infty} (f_{a-jh} + f_{a+jh}) p_{a+jh} \qquad (15)$$

となる。これは p_{a+jh} を加重とする一種の移動平均になつている。母集団での頻度分布に大きな凸凹がない場合には，測定誤差の影響は大きくない。しかし，h/σ_E は，少くとも 2.0 より小さくならない様にした方がよいであろう。

σ_E が ξ に比例する場合の吟味

前節で示した例はすべて誤差の分散が ξ に無関係であると仮定した（4）式より導びかれた。しかし，実際の測定はむしろ，σ_E が ξ に比例すると考えた方が適当であろうと思われる*。もし，h が充分小さく，その間では σ_E が一定とみられるならば，この時も短型分布の例を応用する事が出来る。

σ_E が一定でないという条件のもとでは，$p_{a+jh} = p_{a-jh}$ と考える事は出来ない**。p_{a+jh} は $a+jh$ と j とによつて決定されるので，これを $p_{a+jh,j}$ と表わすと，(15) 式に対応して

$$F_a = f_a p_{a,0} + f_{a-h} p_{a-h,1} + f_{a+h} p_{a+h,1} + f_{a-2h} p_{a-2h,2} + f_{a+2h} p_{a+2h,2} + \cdots\cdots$$

が得られる。$p_{a+jh,j}$ が $a+jh$ の変化につれてどの称に変るかは，Table 2 でみる事が出来る。h が誤差にくらべてある程度大きい時には，近似的に

$$p_{a+h,1} = p_{a,1} + \varepsilon_1, \quad p_{a-h,1} = p_{a,1} - \varepsilon_1$$
$$p_{a+2h,2} = p_{a,2} + 2\varepsilon_2, \quad p_{a-2h,2} = p_{a,2} - 2\varepsilon_2 \cdots\cdots$$

と考える事が出来るので

$$F_a = f_a p_{a,0} + p_{a,1}(f_{a+h} + f_{a-h}) + p_{a,2}(f_{a+2h} + f_{a-2h}) + \cdots\cdots$$
$$+ \varepsilon_1 (f_{a+h} - f_{a-h}) + 2\varepsilon_2 (f_{a+2h} - f_{a-2h}) + \cdots\cdots$$

したがつて

$$F_a - f_a = p_{a,1}(f_{a+h} + f_{a-h} - 2f_a) + p_{a,2}(f_{a+2h} + f_{a-2h} - 2f_a) + \cdots\cdots$$
$$+ \varepsilon_1 (f_{a+h} - f_{a-h}) + 2\varepsilon_2 (f_{a+2h} - f_{a-2h}) + \cdots\cdots \qquad (16)$$

一般には ε がだいたい正であるとみられるので，(16) 式の第2の部分は，f_{a+jh} が j の増加に対して減少的であれば，負となり，増加的であれば正となる。第1の部分は，σ_E が一定の場合の偏りと同じものであるが，f_{a+jh} が上に凸の時に負となり，凹の時に正となる。もし，f_{a+jh} が減少的でかつ凸の場合，或は増加的で凹の場合には，二つの偏りは相加的であり，その他の場合には相殺的となる。一般によく取扱われる指数型分布では，相殺的となる。

文　献

1) 石田昭夫：“測定誤差” 以東底魚資源研究 No. 1, 51～52 (1951) (謄写刷).

2) 東海区水産研究所：東海・東北海区鰮資源調査資料，昭和 26 年，B輯 (1953).

3) 田中昌一：“東海・東北海区で水揚されるカタクチイワシの体長組成―I．昭和 26・27 年における伊勢湾・遠州灘方面の体長組成” (謄写刷，担当官会議資料) 東海区水研 (1953). (1953 年 11 月 日水学会秋期大会にて発表).

4) 統計科学研究会編 “新編統計数値表” 河出書房．東京．(1952) pp. 53～60.

---

* 測定誤差のはいり方が，$x = \xi \cdot \delta$ の型で $\log \delta$ が正規分布をすると仮定する事も出来よう。この場合には，だいたい，σ_E が ξ に比例する様になる。

** p_{a+jh} を p_{a+ih} の表示法にしたがつて正確に書くと $p_{(a+jh)+jh}$ となろう。σ_E が一定の時には p_{a+ih} は a に無関係で i のみによつて決定されるので，$p_{(a+jh)+jh} = p_{a+jh}$ したがつて $p_{a+jh} = p_{a-jh}$ となる。σ_E が $a+jh$ によつて変る時には，これ等の関係はなり立たなくなる。

漁獲努力量制限の効果について

田 中 昌 一
(東海区水産研究所)

The Effect of Restriction of Fishing Effort on the Yield

Syoiti TANAKA

When a fish population has been depleted by a heavy exploitation with the yield from the population maintaining an unfavourable level, one likely expects that the situation may be improved by reduction of fishing effort. Upon a sudden reduction of fishing mortality, p, from p_1 to p_2 at time $\tau=0$, the yield once decreases and then increases gradually until it reaches another steady level higher than the former level.

The present paper deals, along the course of BARANOV's method, with an transition stage of the population following the sudden change of p, as well as a steady state before and long after the change. Relations between the steady yield and the steady fishing mortality (effort-yield curves) are calculated for various values of parameters, λ_0 $(=l_0/u$, where l_0 is the length of recruit and u is yearly increase of the length), q (natural mortality rate) and b (remainder of life of fish at the time of recruitment) (Fig. 2). It is noteworthy that in case of a species growing so slowly after the recruitment, then λ_0 is large, the fishing restriction could scarcely be effective on the yield (Fig. 4).

Unsteady yield curve is calculated for the case in which $\lambda_0=4$, $q=0.15$, $b=10$ and $p_1=1.35$, representing the parameters in the present state of "sohachi-garei" *Cleisthenes herzensteini* (SCHMIDT) in the south-western area of the Japan Sea (Fig. 5).

Density effects on the growth and the natural mortality, which are briefly discussed, appear to diminish the practicability of the restriction considerably (Fig. 6).

はしがき

資源の諸問題は必ず乱獲の問題と結びついているといつても過言ではない。そして，乱獲の問題はしばしば減船整理の問題と結びつけられている。減船整理は多くの犠牲をともなう上に，往々逆の効果を生ぜしめるものであつて，資源対策の方法として軽々しく論ずべきものではない。しかし，現実には過剰努力のために非経済的であるのみならず，そのまゝ放置する時は資源に破壊的影響を与えるとみられる場合もある。資源を永続的に，かつ有効に利用するためには，何等かの制限をしなければならない。そしてこの制限によつておこる資源量，漁獲量の将来の変動を予測することが必要である。

従来漁業制限の問題については多くの文献があり，数理的に取扱つたものとしても，体長の制限に関してはBARANOV[1]，TAUTI[7]の研究があり，最近山中[9]は，制限後の資源量の時間的変化をBARANOVの仮定にしたがつて検討した。漁獲努力量を制限した場合については，やはりBARANOVが同じ論文中で定常状態

1954年10月14日受理 東海区水産研究所業績B第173号（印刷費負担）

について論じている。又 BEVERTON [2] は，体長と努力量の制限を組合せて，eumetic yield curve，optimum fishing intensity 等の考えを発表している。

漁獲努力制限の目的は，乱獲によつて減少した資源を回復させて，より大きな漁獲を得ることにあるが，実用的見地からは，究極的に到達するであろう状態よりも，制限後いかに資源が増加し，漁獲量が変化してゆくかが重要であろう。そのためには，定常状態のみを取扱つた BARANOV や BEVERTON の理論では不充分であり，山中の行つたように，変化の過程を知ることが必要である。

この研究は BARANOV の理論にしたがつて若干の数値計算を行うと共に単純に時間的変化に拡張して考えたものである。したがつて BARANOV の用いたいくつかの仮定はそのまゝ用いられている。これ等の仮定は GRAHAM [3] の指摘しているように，非現実的なものを含んでいるが，その改良については今後の調査結果をまつてあらためて行きたい。

この研究を行うにあたりいろいろと御指導を賜つた当水産研究所の栗田技官，数表をおかし下さつた日本海区水産研究所の山中技官に厚く感謝する。

資源量及び漁獲量の式

t から $t+dt$ の間に一定量 $N\,dt$ だけ若年群の補充をうけている資源が，かなりの期間にわたつて一定の漁獲死亡係数 p_1，自然死亡係数 q，したがつて全死亡係数 $p_1+q=i_1$ をうけて定常の状態にあつたとする。BARANOV にしたがつて，補充された以後においては体長は時間 τ とともに直線的に増加し，魚体の重量は体長の 3 乗に比例すると仮定すると，体長体重をそれぞれ

$$l=l_0+u(\tau-t),\quad wl^3 \qquad (1)$$

とあらわし，補充以後の魚の寿命を b とすれば，総資源量 W_1 は

$$W_1=\int_{\tau-b}^{\tau} w(l_0+u(\tau-t))^3 Ne^{-i_1(\tau-t)}dt$$

となる。ここで

$$\frac{l_0}{u}+\tau-t=\lambda,\quad \frac{l_0}{u}=\lambda_0$$

とおくと

$$W_1=wNu^3\int_{\lambda_0}^{\lambda_0+b}\lambda^3 e^{-i_1(\lambda-\lambda_0)}d\lambda \qquad (2)$$

となる。山中 [9] の yield function

$$\Omega(x,\,y)=\int_y^{\infty}y^3e^{-xy}dy=e^{-xy}\frac{y^3}{x}\left\{1+\frac{3}{xy}+\frac{6}{(xy)^2}+\frac{6}{(xy)^3}\right\}$$

を用いると，(3) 式を

$$W_1=wNu^3e^{i_1\lambda_0}\{\Omega(i_1,\,\lambda_0)-\Omega(i_1,\,\lambda_0+b)\} \qquad (3)$$

とあらわすことができる。これは Fig. 1 で曲線 AB によつて示されている部分の資源重量である。

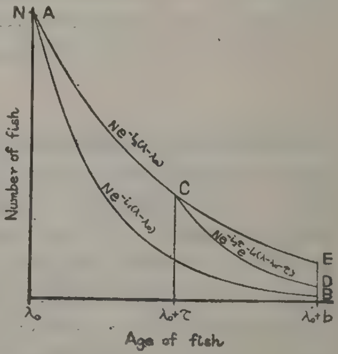


Fig. 1. Curves of mortality. AB: in the period of $\tau<0$. ACD: in the period of $0\leqq\tau<b$. ACE: in the period of $b\leqq\tau$.

今，$\tau=0$ において，急に p_1 を p_2 まで，したがつて i_1 を i_2 までひき下げたとすると，その後ある $\tau(<b)$ なる時刻における資源は Fig. 1 の曲線 ACD の状態となり，資源量は (3) 式を導いたと同様にして，

$$W(\tau)=wNu^3\left[e^{i_2\lambda_0}\{\Omega(i_2,\,\lambda_0)-\Omega(i_2,\,\lambda_0+\tau)\}+e^{(i_1-i_2)\tau+i_1\lambda_0}\{\Omega(i_1,\,\lambda_0+\tau)-\Omega(i_1,\,\lambda_0+b)\}\right] \qquad (4)$$

と得られる。さらに時間が経過して $\tau=b$ となると，Fig. 1 の曲線 ACE で示される高い水準での定常状態に達し，その資源量は，(3) と全く同様な式

$$W_2=wNu^3 e^{i_2\lambda_0}\{\Omega(i_2,\lambda_0)-\Omega(i_2,\lambda_0+b)\} \qquad (5)$$

であらわされる。

一方，漁獲量は制限前及び制限後の安定した状態においては，それぞれ

$$Y_1=p_1W_1,\quad Y_2=p_2W_2, \qquad (6)$$

又一般に $0<\tau<b$ においては，

$$Y(\tau)=p_2W(\tau) \qquad (7)$$

となる。

努力量と漁獲量の関係

定常状態における漁獲死亡係数(努力量に比例すると考えられる)と漁獲量の関係については，$l_0=30$ cm, $b=\infty$ の場合についてすでに BARANOV[1] によつて計算されている。これと同じものを，パラメタの値をかえて，Fig. 2 に示す。(6) 式及び (3) 又は (5) 式によると，定常状態での漁獲量を決定するパラメタは p, b, λ_0 及び b の 4 つである。Fig. 2 には，$\lambda_0=2$,

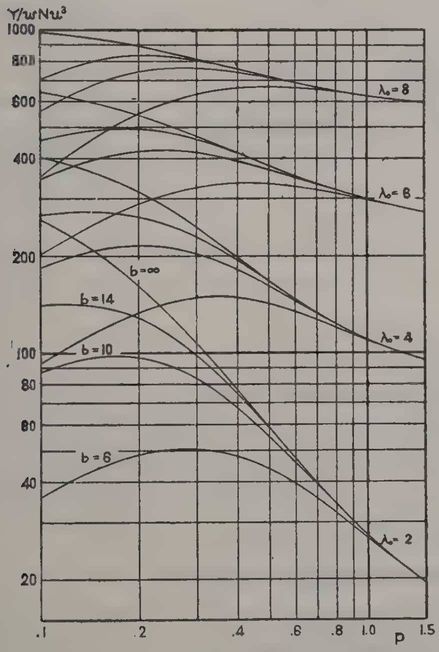


Fig. 2. Effort-yield curves when the natural mortality q is 0.15. $\lambda_0=l_0/u$, where l_0 is the length of recruit and u is yearly increase of the length. b is remainder of life of fish at the time of recruitment.

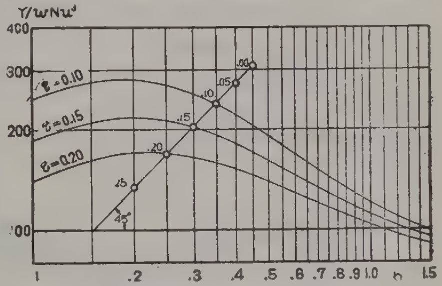


Fig. 3. Effort-yield curves for various natural mortality when $\lambda_0=4$ and $b=10$. Straight line across the curves shows a method to transform a curve corresponding to a particular value of q to another, on a log-log paper.

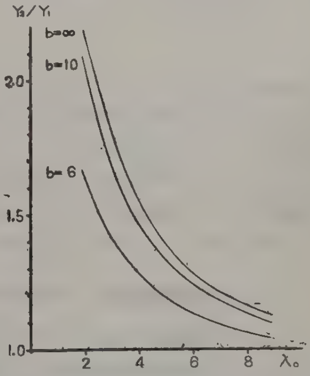


Fig. 4. Increase of the yield when fishing mortality p is reduced from 1.0 to 0.5, as calculated from the Fig. 2. It should be noted that as λ_0 becomes greater the increase of yield is impaired remarkably.

4, 6 及び 8; $b=6$, 10, 14 及び ∞ の時の p が 0.1 から 1.5 の範囲について，Y/wNu^3 の値を示してある。これ等の曲線はすべて $q=0.15$ として計算してあるが，他の q に対する曲線は，Fig.3 に示すように，p 軸と 45° の角度をなす直線上で $(0.15-q)$ だけ p の値を移動させることによつて容易に求められる。

Fig.2 より明らかなように，ある (λ_0, b, q) の値の一組に対して漁獲量を最大ならしめるような p が存在する。この p の値よりも現実の p が大である時には，努力量を制限する事によつて漁獲量のふえることが期待される。しかし，λ_0 の値が大きくなるにしたがつて（これは補充後の成長のわるいことを意味する），努力量の減少にくらべて漁獲量の増加は著しく少くなり，努力量制限の効果の少いことを示している。$p_1=1.0$, $p_2=0.5$ の場合について Y_2/Y_1 の値を図示すると Fig.4 のようになる。

ソウハチガレイの例

大内[6] 及び渡辺[8] によれば，日本海西南海区で漁獲されるソウハチガレイは満1才でほとんど完全に漁獲の対象となり，その時の体長は 12 cm 前後である。その後の成長はほとんど直線的で，毎年の増加量は約 3 cm である。又年令組成から求めた年々の生残率は 0.2〜0.25 で，これを全死亡係数 i に換算すると 1.6〜1.4 となる。一方北海道区水研等[4] の調査によると 10 輪（満 10 才）群まで認められている。

以上のデータにもとづいて，$i_1=1.5$, $\lambda_0=4$, $b=10$ とおき，$q=0.15$ したがつて $p_1=1.35$ と仮定して，この状態において p_1 を p_2 まで下げた時に漁獲量がいかに変化して行くかを示したのが Fig.5 である。図中には，p_2/p_1, Y_2/Y_1 の値も示されている。努力量を半分以下に引き下げた時でも，だいたい2年後には漁獲量はもとの水準を突破し，4〜5年後には制限のための一時的漁獲量の損失をとりもどすことができる。しかしその後の漁獲量の増加は少く，定常状態でわずか 24 % の増加を得るためには 37 % も努力量を引き下げなければならない。したがつて，他の原因による漁獲量の年々の変動を考えれば，努力量の1割や2割程度の引き下げは，漁獲量の上には，実質的にはとんど影響をおよぼさないということができよう。もつとも努力量引き下げによる経費の節減という面からはある程度の効果はあろうが。

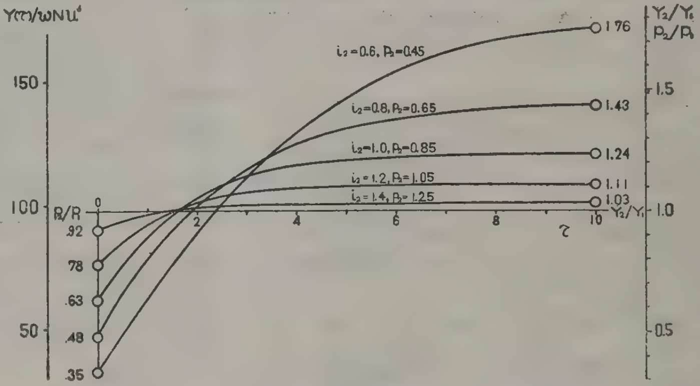


Fig. 5. Increasing yield curve after a sudden change of fishing mortality from p_1 to p_2.

密度増加による自然死亡係数及び成長の変化についての吟味

漁業を制限して資源量が増大した時に，密度増加のために自然死亡係数が高くなり，又個体の成長がわるくなるということが当然予想される。これ等はいずれも漁業制限の効果をよわめるものであつて，無視することはできないであろう。たとえば MILLER[5] は，小さな湖についてであるが，White fish の漁業で努力量が急激に増大した時に，平均年令の減少にもかかわらず，平均体重の増大したことを報じている。しかしこれ等の影響を数式的にあらわす事は容易ではなく，いたずらに非現実的な仮定をもち込むだけであると思

われるので，前節までは成長，自然死亡を共に固定して考えた。ここで若干の考察を進めてみる。

今かりに，ソウハチガレイの資源について，$p=0.1$ の時の成長が $p=1.35$ である現在の 2/3 であるとし，又 q が 0.15 から 0.20 になるものとすると，実際の資源における p と Y との関係は，たとえば Fig.6 中の太線のようになるであろう。なお，この時の密度比は約 11 倍になつている。ここで用いた密度効果の数値はすべて仮りのものにすぎないが，密度効果が努力量制限の効果を著しくよわめるであろうことは，容易に想像される。

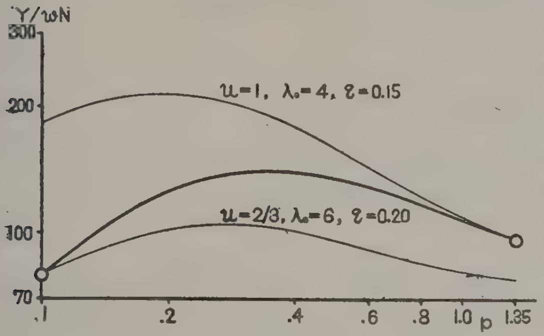


Fig. 6. A hypothetical effort-yield curve for a fish population which is subjected to a density effect. Two thin curves are usual effort-yield curves as in Fig. 2, corresponding to different conditions respectively. If the fish population is known to be subjected to one condition (for upper curve) at $p=1.35$ and the other condition (for lower curve) at $p=0.1$, a hypothetical effort-yield curve such as indicated by heavy line in the figure might be presumed.

総　括

1. BARANOV の仮定にもとづいて，漁獲死亡係数 p と漁獲量 Y の関係を求めた。一般に考えられる範囲では，p の減少による Y の増加はさほど大きくなく，特に補充後の成長のわるい（λ_0 の大きい）魚種ではほとんど Y の増加はみられない。

2. ソウハチガレイの資源について，制限後の漁獲量の変化を求めた。努力量の 50 % 以内の制限ならば 1～2 年以内に漁獲量は以前の水準に達し 2～4 年後には制限後の損失をとりかえすことができる。しかし，総漁獲量の増加はあまり期待することができない。但し，単位努力量当りの漁獲量でいえばかなりの増加が見込まれる。

3. 密度効果の影響を吟味した。仮りの数値をあたえて密度効果のあらわれる資源についての p と Y の関係を示した。密度効果は努力量制限の効果を著しくよわめる。

文　献

1) BARANOV, T. I. : "On the question of the biological basis of fisheries", Nauchnyi issledovatelskii iktiologisheskii Instit, *Izvestiia*, 1 (1), 81—128 (1918).（笠原・深滝共訳，水産科学叢書 No. 1，水産庁）

2) BEVERTON, R. J. H. : "Some observations on the principle of fishery Regulation", *Jurnal du Conseil*, **19**, 56—68 (1953).

3) GRAHAM, M. : "Overfishing and optimum fishing", *Rapp. et Proces-Verb. des Réun.*, **132**, 72—78 (1952).

4) 北海道区水産研究所，他：北海道区資源調査要報，第 6 号，(1953).

5) MILLER, R. B. : "Problems of the optimum catch in small white fish lakes", *Biometrics*, **5**, 14—26 (1949).

6) 大内　明："鱗によるソウハチの年令及び成長"，日水研研究年報，No. 1, 27—32 (1954).

7) TAUTI, M. : "The increase of large fishes in the stock resulted from saving small", *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **3**, 307—311 (1935).

8) 渡辺　徹："日本海西南海域における底魚資源研究（I）"，日水研研究年報，No. 1, 65—81 (1954).

9) 山中一郎；"体長制限の効果について　I"，日水研研究年報，No. 1, 119—126 (1954).

体長組成中にあらわれるモードの意義について—I. 正規分布をする二群の混合した分布型

田　中　昌　一
（東海区水産研究所）

Meaning of Mode in a Length Distribution of Fish—I. Compound of Two Normal Distributions

Syoiti TANAKA

The purpose of this paper is to explain usefulness of the mode which appears in a length distribution of fish for separating a mixed group into homogeneous subgroups, e.g., by age.

A mixture of two subgroups each of which distributes normaly with difference of means d, the ratio of standard deviations σ and mixing ratio A are considered. When d becomes larger than a certain limit d_0, two modes would appear very close to the respective means (Fig. 2). Ratio of the modal values are also near to A/σ (Table 1). Sometimes, though d is less than d_0, existence of heterogeneous group is indicated through a bump in the skirt of the distribution curve. These facts show that the mode can be made use of in isolating a mixed group into subgroups. An effort has been made to obtain the conditions of parameters which enable to separate the mode and have the bump appear (Fig. 3, Fig. 4).

Furthermore, means and areas which were calculated for parts of the distribution curve separated at the point of minimum value, have been compared with the locations of modes and the ratio of modal values, respectively (Table 2, Table 3). As regard to the biases of estimations for the mean values of respective subgroups and the mixing ratio, the modes excel means and areas for the parts. However, it is necessary to discuss the varidity of the mode from the standpoint of sampling error, the problem which should be studied in future.

緒　　論

体長組成中にあらわれるモードは，古くから組成の特性を示す一つの値として，しばしば用いられている。これは，体長分布が正規型か或はこれに類似した分布型をもつという仮定を暗に含んでの事と思われる。しかし，一般に体長組成は，いろいろな条件で異質な個体を含んでいるために，特殊な場合以外，正規型とは非常にちがつた型となつている。この様な分布型においてモードをある特性値として用いるには，これがいかなる性質をあらわしているかをよく吟味してからでなければならない。

ある種の魚種（たとえばレンコダイ[5]）においては，体長組成の中に，いくつものモードがあらわれる。これ等のモードが，年令等の条件によつて分離された単位の（等質な）魚群に対応するものであれば，我々は混合された漁獲物をそれぞれの等質な群に分離する手がかりとして，モードを利用する事が出来るであろう。BUCHANAN-WOLLASTON 等[2]はこの考えにもとづく一つの頻度曲線の取扱い方を示している。

単位の魚群については，我々はより確かな根拠をもつて，体長組成の正規性を仮定する事が出来る[7]。正規型の仮定のもとでは，必要な特性値は，平均，分散及び加重の三つだけとなる。しかし，単位の魚群が体長によつて完全に分離されているごくまれな場合以外においては，我々は普通の方法（算術平均，不偏分散等）でこれ等のパラメタを推定する事は出来ない。それでも，モードの分離がかなり顕著な時は STURTEVANT 等[6]の用いた COHEN[4]の方法，或は BUCHANAN-WOLLASTON[1)3)] の様に対数をとつて拋物線をあてはめ

1954 年 11 月 30 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 178 号（印刷費負担）

める方法等も利用出来ようが，さもない時にはモ -ドそのものを一つの統計量としてあつかわなければならない。

今，最も単純な場合として，正規分布をする二つの単位群が混合した場合の分布型を考えてみよう。これ等の群の平均の差が単位群の標準偏差にくらべて小さい時には，ただ一つのモードが二つの平均の間のどこかにあらわれる。平均の差がある限界以上になると，モードは二つに分離し，さらに差が大きくなるにしたがつて，二つの山は，それぞれ単一の正規分布に近づいて行く。もし，二群の混合の比が非常に大きいか，又は小さい時には，なかなか bimode とはならないが，平均の差が増すにつれて，分布の一方の裾にこぶがあらわれ，別の群の混在がはつきりと見られる様になる。

この研究は，異質のものの混合した分布を個々の単位の群に分離する際のモードの意義を明らかにするために，まず二つの正規分布をする単位群の混合について，分布の形を検討したものである。この研究を行うにあたり，有益な御助言をいただいた日本海区水産研究所の山中一郎技官に感謝する。又東海区水産研究所の源生雅子，野島休五両氏には図表作成及び数値計算の労をわずらわした事を感謝する。

モードの位置，高さ，bimode となる条件

単位の群における体長分布を正規型と仮定し，二つの単位の群について，その平均の差を d，標準偏差の比を σ，混合比を A とすると，混合群についての体長の分布曲線の一般型は

$$f(x;d,\sigma,A)=\frac{1}{\sqrt{2\pi}\,(1+A)}\left\{e^{-\frac{x^2}{2}}+\frac{A}{\sigma}e^{-\frac{(x-d)^2}{2\sigma^2}}\right\} \qquad (1)$$

とあらわされる*。この一次導函数を 0 とおくと，

$$xe^{-\frac{x^2}{2}}=-\frac{A}{\sigma^2}\cdot\frac{(x-d)}{\sigma}e^{-\frac{(x-d)^2}{2\sigma^2}} \qquad (2)$$

を得る。ここで

$$t\equiv\frac{d-x}{\sigma} \qquad (3)$$

とおくと，(2) 式は

$$xe^{-\frac{x^2}{2}}=\frac{A}{\sigma^2}te^{-\frac{t^2}{2}} \qquad (4)$$

となる。極大又は極小点は，曲線 (4) と直線 (3) との交点の x 座標として与えられる** (Fig. 1)。一般に，交点は 3つ，或は 1つ存在し，3つの場合には，両端の二つが極大を与え，1つの場合には極大だけを与える。

いろいろな σ, A の値について，d に対して極大，極小点を図示すると Fig. 2 の様になる。Fig. 2 中の点線の部分は極小点を示している。d が小さい間は極大点のみしか存在しない（即ち monomodal）が，d がある限界 d_0 を超えると（図中○印），極大点は二つにわかれ（Fig. 1 中の x_1, x_3），それぞれ 0 及び d に急に近づいて行く。特に混合比 A の小さい時には，x_1 はほとんど常に 0 であるとみてさしつかえない。以上の事は，モードがはつきりと二つに分離する程度に平均がちがつている時には，二つの平均の

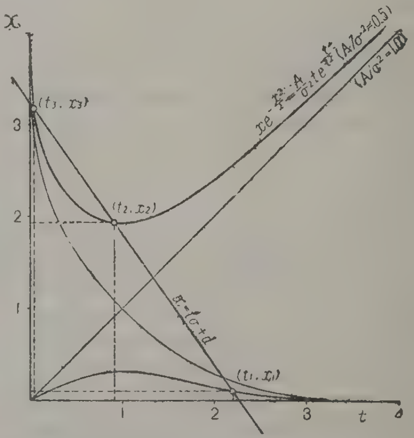
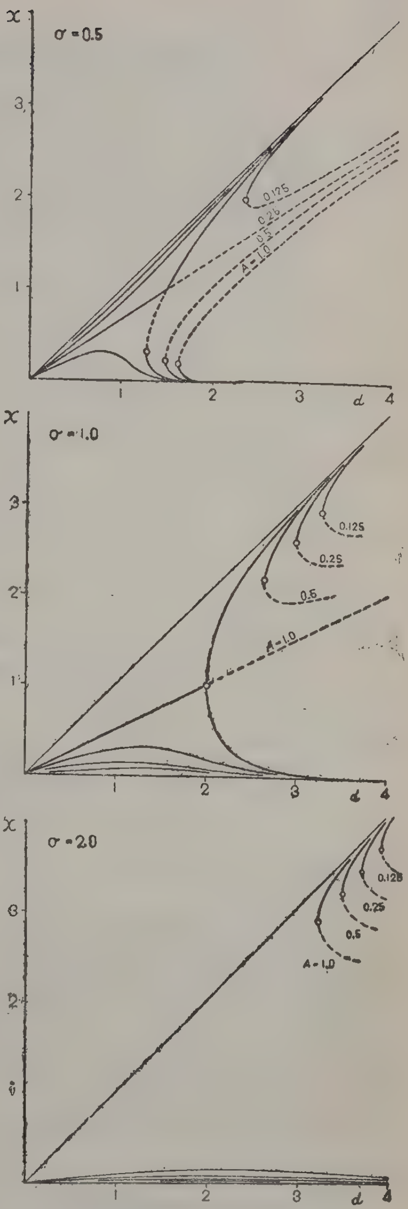


Fig. 1. A graphical solution obtaining maximum and minimum points of the distribution curve (formula 1). The intersecting points of two lines (formulae 3 and 4) give the solution. x_1 and x_3 are maximum and x_2 is minimum point.

* d, A について，$d\geq 0$, $A\leq 1$ と仮定しても，一般性はうしなわれない。

** (4) 式の両辺とも 0 となる場合については考えない。



位置はモードによつてよくあらわされ，特に割合の多い方の群の平均について著しい事を示している。

次にモードの高さ，即ち極大値について考えてみよう。もし，二つの分布がそれぞれ単独で存在したとすると，その極大値の比は $1:\frac{A}{\sigma}$ となる。(1) 式で与えられる分布については，常数を無視すると，極大点 (x_1, t_1) については

$$f_0(x_1)=e^{-\frac{x_1^2}{2}}+\frac{A}{\sigma}e^{-\frac{t_1^2}{2}} \qquad (5)$$

(x_3, t_3) については

$$f_0(x_3)=e^{-\frac{x_3^2}{2}}+\frac{A}{\sigma}e^{-\frac{t_3^2}{2}} \qquad (6)$$

したがつて極大値の比は，

$$\frac{f_0(x_3)}{f_0(x_1)}=\frac{e^{-\frac{x_3^2}{2}}+\frac{A}{\sigma}e^{-\frac{t_3^2}{2}}}{e^{-\frac{x_1^2}{2}}+\frac{A}{\sigma}e^{-\frac{t_1^2}{2}}} \qquad (7)$$

となる。Table 1 に $f_0(x_1)$, $f_0(x_3)$ 及びその比 $f_0(x_3)/f_0(x_1)$ の値を示す。$d>d_0$ においてこの比が $\frac{A}{\sigma}$ に近づく事がわかる。モードが明瞭に分離している時には，モードの高さの比が $1:\frac{A}{\sigma}$, 即ちそれぞれが単独であつた場合の高さの比に等しいとみる事が出来る。もし何等かの方法で σ を推定する事が出来れば，混合比 A を求める事が出来る。

Fig. 2 によつても明らかな様に，ある σ, A に対して，モードが二つに分離する最小の $d(=d_0)$ が存在する。この d_0 の値は，数学的には，極大点と変曲点の一致する条件として与えられる。変曲点は，(1) 式の2次導函数を 0 とおく事によつて得られ，

$$(x^2-1)e^{-\frac{x^2}{2}}=-\frac{A}{\sigma^3}(t^2-1)e^{-\frac{t^2}{2}} \qquad (8)$$

となる。ここで (4), (8) 及び (3) 式を連立方程式として解くわけであるが，未知数が5つあるので，そのうちの2つは任意に指定する事が出来る。指定する未知数として t 及び σ を選ぶ事にしよう。まず (8) 及び (4) 式から

$$x^2+\frac{1}{\sigma}\left(t-\frac{1}{t}\right)x-1=0$$

が得られるので，これを x について解いて

$$x=-\frac{1}{2\sigma}\left(t-\frac{1}{t}\right)+\sqrt{\frac{1}{4\sigma^2}\left(t-\frac{1}{t}\right)^2+1} \qquad (9)$$

を得る*。x の値がわかれば，d は

Fig. 2. Maximum and minimum points as functions of difference of two means d, for various σ and A. Solid lines: maximum points. Dotted lines: minimum points. When d is larger than a certain limit d_0 (marked on the curves by ○), simulteneous equations (formulae 3 and 4) have three real solutions and two modes appear in the distribution.

* 第2項の附号については，$t=\pm1$ とおいてみる事により，$t>0$ では (+)，$t<0$ では (−) である事がわかる。今は $t>0$ の場合についてのみ論じているので (+) の附号をとる。

Table 1. Modal values $f_0(x_1)$ and $f_0(x_3)$, and their ratio $f_0(x_3)/f_0(x_1)$. $f_0(x)=\exp\left(-\frac{x^2}{2}\right)-\frac{A}{\sigma}\exp\left(-\frac{t^2}{2}\right)$.

A	σ / d	2.0: $f_0(x_1)$	2.0: $f_0(x_3)$	2.0: $\frac{f_0(x_3)}{f_0(x_1)}$	1.0: $f_0(x_1)$	1.0: $f_0(x_3)$	1.0: $\frac{f_0(x_3)}{f_0(x_1)}$	0.5: $f_0(x_1)$	0.5: $f_0(x_3)$	0.5: $\frac{f_0(x_3)}{f_0(x_1)}$
1.0		$d_0=3.24$			$d_0=2.00$			$d_0=1.62$		
	d_0	1.14	0.51	0.45	1.21	1.21	1.00	1.02	2.28	2.25
	2.0	—	—	—	—	—	—	1.00	2.14	2.14
	3.0	—	—	—	1.01	1.01	1.00	1.00	2.01	2.01
	∞	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	1.00	1.00	2.00	2.00
0.5		$d_0=3.51$			$d_0=2.63$			$d_0=1.48$		
	d_0	1.06	0.25	0.24	1.02	0.55	0.54	1.02	1.33	1.32
	2.0	—	—	—	—	—	—	1.00	1.15	1.15
	3.0	—	—	—	1.01	0.51	0.51	1.00	1.01	1.01
	∞	1.00	0.25	0.25	1.00	0.50	0.50	1.00	1.00	1.00
0.25		$d_0=3.73$			$d_0=2.98$			$d_0=1.28$		
	d_0	1.02	0.13	0.12	1.00	0.27	0.27	1.03	1.05	1.02
	2.0	—	—	—	—	—	—	1.00	0.66	0.66
	3.0	—	—	—	1.00	0.27	0.26	1.00	0.51	0.51
	∞	1.00	0.125	0.125	1.00	0.25	0.25	1.00	0.50	0.50
0.125		$d_0=3.95$			$d_0=3.26$			$d_0=2.34$		
	d_0	1.01	0.06	0.06	1.00	0.13	0.13	1.00	0.33	0.33
	3.0	—	—	—	—	—	—	1.00	0.26	0.26
	∞	1.00	0.0625	0.0625	1.00	0.125	0.125	1.00	0.25	0.25

$$d=t\sigma+x \qquad (10)$$

として，又 A は

$$A=\sigma^2\frac{x}{t}e^{-\frac{1}{2}(x^2-t^2)} \qquad (11)$$

として，それぞれ求められる。5つのパラメタのうち分布の型を決定するパラメタ d, σ 及び A の間の関係を図示すると Fig. 3 の様になる。それぞれの曲線の右側の部分が bimode の領域である。普通考えられるパラメタの範囲においては，だいたい d が 3 以上となつた時モードが2つになると考えてよいであろう。

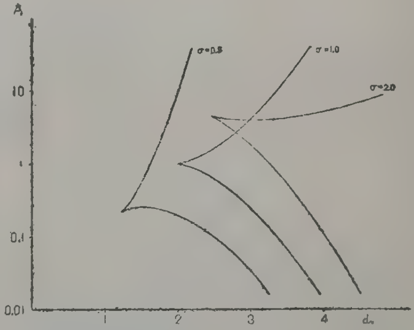


Fig. 3. Condition of parameters to separate the mode. Right parts of the curves are the domain of bimodal distribution.

こぶの出来る条件

Fig. 3 によると，混合比 A が小さくなるにしたがつて，モードが分離するための d, 即ち d_0 が大きくなる事がわかる。しかし，完全に bimode とならなくても，ある程度 d が大きければ，山の一方の裾にこぶがあらわれる。こぶについては，(1) 式の変曲点をしらべる事によつてその様子をみる事が出来る。変曲点は (8) 及び (3) 式より得られ，一般に 2, 4

又は6つ存在する*。特殊な場合として，奇数個の変曲点があらわれる事があり，これがこぶの出来る限界を与える。数値的に求めるには，(1) 式の3次導函数を 0 とおいた式

$$(3x-x^3)e^{-\frac{x^2}{2}}=\frac{A}{\sigma^4}(3t-t^3)e^{-\frac{t^2}{2}} \tag{12}$$

と (8) 及び (3) 式を連立方程式として解けばよい。ここでも t 及び σ を固定して考える。まず (8) 及び (12) 式より

$$x^3-\frac{1}{\sigma}\frac{(3t-t^3)}{t^2-1}-3x+\frac{1}{\sigma}\frac{(3t-t^3)}{t^2-1}=0$$

が得られ，これを解いて，3つの実根

$$\left.\begin{aligned} {}_1x&=2\sqrt{p}\cos\frac{\varphi}{3}+u \\ {}_2x&=-2\sqrt{p}\cos\frac{\pi-\varphi}{3}+u \\ {}_3x&=-2\sqrt{p}\cos\frac{\pi+\varphi}{3}+u \end{aligned}\right\} \tag{13}$$

を得る。但し，

$$u=\frac{3t-t^3}{3\sigma(t^2-1)},\quad p=u^2+1,\quad q=u^3,\quad \cos\varphi=\frac{q}{p^{\frac{3}{2}}}$$

である。これ等の3つの実根のうち，$t>1$ では，${}_3x$ のみが重要である。d 及び A は

$$\left.\begin{aligned} d&={}_3x+t\sigma \\ A&=-\sigma^3\frac{({}_3x^2-1)}{(t^2-1)}e^{-\frac{1}{2}({}_3x^2-t^2)} \end{aligned}\right\} \tag{14}$$

によつて求められる。d, σ 及び A の関係を図示すると Fig. 4 となる。曲線の右側がこぶの出来る領域である。

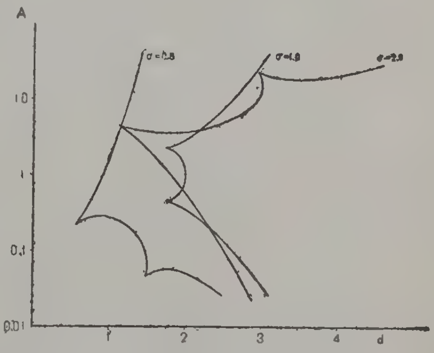


Fig. 4. Condition of parameters when the bump appears. Right parts of the curves are the domain of the distribution in which the bump appears.

極小点で切りはなされた部分についての平均

モードがはつきりと分離している時には，谷の所で左右を切りはなし，左右各部について，別々に平均を求める方法も考えられる**。右の部分の平均を m_r，左の部分の平均を m_l であらわすと，

$$m_r=\frac{\int_{x_2}^{\infty}xf(x)dx}{\int_{x_2}^{\infty}f(x)dx}$$

$$=\frac{\frac{1}{\sqrt{2\pi}}e^{-\frac{x_2^2}{2}}+\frac{A\sigma}{\sqrt{2\pi}}e^{-\frac{(x_2-d)^2}{2\sigma^2}}+Ad\left[\frac{1}{2}+\phi\left(\frac{d-x_2}{\sigma}\right)\right]}{\left[\frac{1}{2}-\phi(x_2)\right]+A\left[\frac{1}{2}+\phi\left(\frac{d-x_2}{\sigma}\right)\right]}$$

---

* 2つの場合，分布型は monomodel で正規型に近く，2つの単位群を分離する事は困難。

6つの場合，$d\to0$ $\sigma\to$大又は小（だいたい3以上又は 1/3 以下）となる場合にあらわれ，実際問題としてはあまり興味がない。

4つの場合，一方の裾にこぶのあらわれる場合に相当し，重要である。小さい方から3番目の変曲点が大きい方の平均の附近にあらわれる。

** 日本海区水産研究所山中一郎氏の提案による。

$$m_l=\frac{\int_{-\infty}^{x_2} xf(x)dx}{\int_{-\infty}^{x_2} f(x)dx}$$

$$=-\frac{\frac{1}{\sqrt{2t}}e^{-\frac{x_2{}^2}{2}}+\frac{A\sigma}{\sqrt{2\tau}}e^{-\frac{(x_2-d)}{2\sigma 2}}-Ad\left[\frac{1}{2}-\phi\left(\frac{d-x_2}{\sigma}\right)\right]}{\left[\frac{1}{2}+\phi(x_2)\right]+A\left[\frac{1}{2}-\phi\left(\frac{d-x_2}{\sigma}\right)\right]}$$

但し，

$$\phi(x)\equiv\frac{1}{\sqrt{2\tau}}\int_0^x e^{-\frac{x^2}{2}}dx$$

である。m_r を右側のモード x_3 と，m_l を左側のモード x_1 と，それぞれ対比させてみると，Table 2 の様になる。一般的にいつて，モードの位置の方が，部分についての平均より，真の値に近い。

Table 2. Mean values for right and left parts (m_r, m_l) which are divided at the minimum point x_2. Maximum points x_3 and x_1 are also shown to compare with m_r and m_l respectively.

A	σ / d	2.0 m_r	2.0 x_3	2.0 m_l	2.0 x_1	1.0 m_r	1.0 x_3	1.0 m_l	1.0 x_1	0.5 m_r	0.5 x_3	0.5 m_l	0.5 x_1
1.0		$d_0=3.24$				$d_0=2.00$				$d_0=1.62$			
	d_0	4.60	2.86	0.41	0.11	2.17	1.00	−0.17	1.00	1.41	1.56	−0.68	0.19
	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	1.90	1.96	−0.35	0.00
	3.0	—	—	—	—	3.06	2.96	−0.06	0.04	2.97	2.99	−0.09	0.00
	4.0	4.70	4.00	0.19	0.07	4.02	4.00	−0.02	0.00	3.99	4.00	−0.02	0.00
0.5		$d_0=3.51$				$d_0=2.63$				$d_0=1.48$			
	d_0	4.89	3.17	0.30	0.05	3.13	2.17	0.18	0.05	1.24	1.33	−0.66	0.23
	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	1.78	1.92	−0.27	0.00
	3.0	—	—	—	—	3.20	2.92	0.04	0.02	2.97	2.99	−0.07	0.00
	4.0	4.87	3.99	0.17	0.04	4.05	4.00	0.00	0.00	3.99	4.00	−0.01	0.00
0.25		$d_0=3.73$				$d_0=2.98$				$d_0=1.28$			
	d_0	5.13	3.41	0.19	0.02	3.52	2.59	0.14	0.01	1.13	0.85	−0.60	0.32
	2.0	—	—	—	—	—	—	—	—	2.00	1.81	−0.15	0.00
	3.0	—	—	—	—	3.48	2.73	0.12	0.01	2.97	2.98	−0.04	0.00
	4.0	5.06	3.95	0.13	0.02	4.09	4.00	0.01	0.00	3.98	4.00	−0.01	0.00
0.125		$d_0=3.95$				$d_0=3.26$				$d_0=2.34$			
	d_0	5.39	3.65	0.11	0.01	3.84	2.92	0.09	0.00	2.52	1.99	−0.00	0.00
	3.0	—	—	—	—	—	—	—	—	3.00	2.96	−0.03	0.00
	4.0	5.31	3.86	0.10	0.01	4.16	4.00	0.02	0.00	3.98	4.00	−0.01	0.00

極小点 x_2 でわけられた左右の面積について見ると，Table 3 に示す様になる。モードの高さの比が，d が小さい時にもだいたい $d=\infty$ の時の値に近い（Table 1）のとくらべると，x_2 の左右の面積は，d がかなり大きくならなければ，著しく異つた値を与える事がわかる。

実際のデータについてモードを利用する場合には，モードが不安定な推定値である事に注意しなければならない。標本の大きさが小さい時には，主なモードの位置すらみわけにくいものである。m_r、m_l についても，左右を切りはなす点 x_2 の誤差によつて，同様の誤差がはいつてくる。x_2 の誤差が m_r や m_l にどの程度に影響するかは，m_r や m_l を x_2 で微分する事によつて見当づける事が出来る。微係数の値を計算し

Table 3. Areas of left and right parts of minium point x_2, and their ratio $\int_{x_2}^{\infty} f(x)dx / \int_{-\infty}^{x_2} f(x)d(x)$. All figures in the table regarding to the areas are multiplied by constant $1+A$.

A	σ	2.0			1.0			0.5		
	d	$\int_{-\infty}^{x_2} f(x)dx$	$\int_{x_2}^{\infty} f(x)dx$	Ratio	$\int_{-\infty}^{x_2} f(x)dx$	$\int_{x_2}^{\infty} f(x)dx$	Ratio	$\int_{-\infty}^{x_2} f(x)dx$	$\int_{x_2}^{\infty} f(x)dx$	Ratio
		$d_0=3.24$			$d_0=2.00$			$d_0=1.62$		
1.0	d_0	1.42	0.58	0.41	1.00	1.00	1.00	0.58	1.42	2.47
	2.0	—	—	—	—	—	—	0.80	1.20	1.49
	3.0	—	—	—	1.00	1.00	1.00	0.96	1.04	1.08
	4.0	1.20	0.80	0.67	1.00	1.00	1.00	0.99	1.01	1.01
	∞	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
		$d_0=3.51$			$d_0=2.63$			$d_0=1.48$		
0.5	d_0	1.22	0.29	0.23	1.15	0.35	0.31	0.59	0.91	1.54
	2.0	—	—	—	—	—	—	0.82	0.69	0.84
	3.0	—	—	—	1.04	0.46	0.44	0.92	0.53	0.54
	4.0	1.13	0.37	0.33	1.01	0.49	0.49	1.00	0.50	0.51
	∞	1.00	0.50	0.50	1.00	0.50	0.50	1.00	0.50	0.50
		$d_0=3.73$			$d_0=2.98$			$d_0=1.28$		
0.25	d_0	1.11	0.14	0.13	1.08	0.17	0.15	0.63	0.62	0.97
	2.0	—	—	—	—	—	—	0.93	0.32	0.34
	3.0	—	—	—	1.07	0.18	0.17	0.98	0.27	0.27
	4.0	1.08	0.17	0.16	1.01	0.24	0.24	1.00	0.25	0.25
	∞	1.00	0.25	0.25	1.00	0.25	0.25	1.00	0.25	0.25
		$d_0=3.95$			$d_0=3.26$			$d_0=2.34$		
0.125	d_0	1.06	0.07	0.07	1.04	0.08	0.08	1.01	0.12	0.12
	3.0	—	—	—	—	—	—	0.99	0.13	0.14
	4.0	1.05	0.08	0.07	1.01	0.12	0.12	1.00	0.13	0.13
	∞	1.00	0.125	0.125	1.00	0.125	0.125	1.00	0.125	0.125

てみると，m_r の方でもだいたい 60％以下*，m_l の方では，時に A の小さい時には 10％以下* となるので，一般に平均値は変動が少い事と考え合せて，標本誤差の観点からは，モードよりも部分についての平均の方がすぐれている様にみられる。標本誤差に関するくわしい吟味は今後の研究にゆずる事にする。

総　括

それぞれ正規分布をする単位群の混合した場合の分布の形を検討した。単位群の平均の差 d がある程度大きくなると，モードが二つにわかれ，モードの位置は d の増加とともに急速にそれぞれの平均に近づく。又モードの高さの比は，二群の混合比 A を標準偏差の比 σ で割った値に近い。これらの事は，混合によつてできた分布を個々の単位群に分かつ手がかりとして，モードが重要な意義をもつている事を示している。分布の形が bimode となるためのパラメタの条件を求めた。

混合比 A が小さい時には，bimode となりにくいが，こぶの出来る事によつて異質のものの混在をたしかめる事が出来る。こぶの出来る条件を求めた。

* d が大になるにしたがつてさらに小さくなる。

極小点で分布を左右にわけた時の部分についての平均，左右の面積の比を計算し，これをモードの位置，高さの比と比較した。モードの方が偏りは少いが，標本誤差の観点からの検討が必要である。

文　献

1) H. J. Buchanan-Wollaston: "On the Selective Action of a Trawl Net, with some Remarks on Selective Action of Drift Nets", *Jurnal du Couseil* **2**, 343～355 (1927).

2) —— and W. C. Hodgson: "A New Method of Treating Frequency curves in Fishery Statistics, with some Results", *Jurnal du Conseil* **4**, 207～225 (1929).

3) ——: "The Selective Action of the Gelder Cod-End and that of other Cod-Ends Compared", *Jurnal du Conseil* **4**, 300～308 (1929).

4) A. C. Cohen, Jr.: "On Estimating the Mean and Standard Deviation of Truncated Normal Distributions", *Jour. Am. Stat. Assn.* **44**, 518～525 (1949).

5) 西海区水産研究所："東海・黄海における底魚資源の研究"，長崎，(1953).

6) Frank M. Sturtevant Jr., Lyle D. Calvin and Orlando Park: "The Analysis of Variation in a Natural Population of Lady Beetles", *Biometrics* **9**, 117 (1953).

7) 田中昌一："東海・東北海区で水揚されるカタクチイワシの体長組成―I."，東海区水産研究所イワシ資源調査担当官会議資料 (1953) (1953 年 11 月水産学会秋季大会にて発表).

海　　　　洋

OCEANOGRAPHY

濱名湖に於ける湖水の循環，陸水・外海水の流入及び湖流に就いて（貝毒の研究に関連して）

平 野 敏 行
（東海区水産研究所）

On the Water Exchange and the Current in Hamana Lake in Relation to Occurrences of Toxic Shellfish

Toshiyuki HIRANO

Since 1949 hydrographical surveys[1),2),3),4)] have been conducted by the Hamana Lake Branch, Shizuoka Fisheries Experimental Station, in the lake in order to find out causes of poisonous shellfish encountered there from time to time. Using data obtained from the surveys the author has calculated the amounts of water exchange, which was caused by vertical mixing between the upper and lower parts of the lake, by the inflows from the open sea and of terrestrial water. Thereupon has been introduced the following new simultaneous equations

$$\begin{cases} A(T''_a-T'_a)=Q_1(\overline{T}_1-\overline{T}_0)-Q_2(\overline{T}_0-\overline{T}_s)-M[X]+DA, \\ A(\mathrm{Cl}''_a-\mathrm{Cl}'_a)=Q_1(\overline{Cl}_1-\overline{Cl}_0)-Q_2(\overline{Cl}_0-\overline{Cl}_s)-M[Y], \\ B(T''_b-T'_b)= \qquad Q_2(\overline{T}_2-\overline{T}_s)+M[X]+D'B, \\ B(\mathrm{Cl}''_b-\mathrm{Cl}'_b)= \qquad Q_2(\overline{Cl}_2-\overline{Cl}_s)+M[Y], \end{cases}$$

where

$$[X]=\left[\frac{\Delta T''-\Delta T'}{\Delta\sigma_t''-\Delta\sigma_t'}+\frac{\Delta T'\cdot\Delta\sigma_t''-\Delta T''\cdot\Delta\sigma'_t}{(\Delta\sigma''_t-\Delta\sigma'_t)^2}\log\frac{\Delta\sigma''_t}{\Delta\sigma'_t}\right],$$

$$[Y]=\left[\frac{\Delta \mathrm{Cl}''-\Delta \mathrm{Cl}'}{\Delta\sigma''_t-\Delta\sigma'_t}+\frac{\Delta \mathrm{Cl}'\cdot\Delta\sigma_t''-\Delta \mathrm{Cl}''\cdot\Delta\sigma_t'}{(\Delta\sigma''_t-\Delta\sigma'_t)^2}\log\frac{\Delta\sigma''_t}{\Delta\sigma_t'}\right],$$

A, B=volumes of water in the upper and lower parts of lake,
T_a, Cl_a=mean values of temperature and chlorinity of the upper part,
T_b, Cl_b= 〃 〃 〃 of the lower part,
Q_1, Q_2=volumes of terrestrial water and open sea water flowing in during a certain period,
T_1, Cl_1=mean values of temperature and chlorinity of terrestrial water,
T_2, Cl_2= 〃 〃 〃 of open sea water,
T_0, Cl_0=temperature and chlorinity of the upper layer in the upper part,
T_s, Cl_s= 〃 〃 〃 in the lower part,
DA=differential amount of heat exchange between the surrounding areas and the upper part,
$D'B$= 〃 〃 〃 and the lower part,
$\overline{T}=\frac{T''+T'}{2}$, $\Delta T=T_a-T_b$, $\Delta\sigma_t=\sigma_{tb}-\sigma_{ta}$ (represents stability between the upper and lower parts),

$M=m(t''-t')$, $c=\frac{m}{\sigma_{tb}-\sigma_{ta}}$,

c is volume of exchanged water by vertical mixing between the upper and lower parts at unit time, and notations $''$ and $'$ represent the values at time t'' and t' respectively. Above equations are modified from Okada's equations[5)]

1954 年 12 月 27 日受理東海区水産研究所業績第 186 号（印刷費負担）

$$\begin{cases} \Delta(T_a A)=Q_1(T_1-T_0)-Q_2(T_0-T_s)-C(T_a-T_b)+DA, \\ \Delta(Cl_a A)=Q_1(Cl_1-Cl_0)-Q_2(Cl_0-Cl_s)-C(Cl_a-Cl_b), \\ \Delta(T_b B)= \qquad\qquad Q_2(T_2-T_s)+C(T_a-T_b), \\ \Delta(Cl_b B)= \qquad\qquad Q_2(Cl_2-Cl_s)+C(Cl_a-Cl_b), \end{cases}$$

where Δ represents the change of the values during a certain period and C is volume of exchange water by vertical mixing between the upper and lower parts during a certain period.

On the basis of these calculated amounts, and of the results of a current survey by drift cards carried out by the author in August 1953, the hydric factors of Hamana Lake have been discussed so that the study may contribute to the research into causes of the toxic shellfish. In the light of limnological studies made by Noguchi and others, Noguchi has proceeded to an assumption that some harmful substances to life produced in the bottom area of the lake in summer rise to the surface by convection in winter and flow down to the mouth of the lake. However, the results from the present study seem to suggest that water exchange between the layers is too great even in summer to let any harmful substances grow, and that occurrences of poisonous shellfish in two seasons of 1952 and 1953 revealed no close relation to water exchange in the prior seasons, making one difficult to accept the above assumption.

緒　　言

浜名湖に於ける貝毒化の原因を究明するために既に多くの研究調査[4]が行われ，特に貝毒化を惹起する環境条件を研究するため，昭和 24 年 12 月以来静岡県水産試験場浜名湖分場に於て浜名湖の海況調査[1),2),3),4]が行われているが，未だこれらの調査研究は貝毒化の原因を明かにする所迄行つていない。しかし野口博氏(1952)[4]は貝毒化の原因について，″夏季湖底部の有機物は嫌気的分解が行われ，有用生物に有害な物質が生成され，且此等の物質は秋季以降湖水の循環に依り表層に現われ且次第に南下し，貝毒化の原因を為すのではないか″，と推論されている。著者は 1953 年 8 月浜名湖に於ける湖流調査を行う機会を得たので，主として静岡県水産試験場浜名湖分場に於て観測された資料[1),2),3)]に依つて湖水の循環置換量及び陸水・外海水の流入置換量を推定し，併せて 1953 年 8 月の湖流調査結果を報告し，貝毒化の原因に関連して浜名湖の水理学的環境要因に就て考察した。その結果野口氏の説は必しも肯定され得ないと考えられた。

水温・塩素量の変化から見た湖水の循環及び陸水・外海水の流入に依る置換

岡田光世氏 (1938)[5]に従つて湖水を 0 m～5 m； 5 m～10m の上・下二部に分けて次の様な量を考える。(是に浜名湖は湖央部に於て深さは 10m 内外であり，躍層は大体 5 m内外の所に存在するから，この分け方は妥当だと考えられる。)

A	：上部の容積	B	：下部の容積
T_a, Cl_a	：上部の平均水温，塩素量	T_b, Cl_b	：下部の平均水温，塩素量
Q_1	：或る期間に上部に流入した水の容積	Q_2	：同下部に流入した水の容積
T_1, Cl_1	：上部に流入した平均水温，塩素量	T_2, Cl_2	：下部に流入した平均水温，塩素量
T_0, Cl_0	：上部の上層の水温，塩素量	T_s, Cl_s	：下部の上層の水温，塩素量

C　：或る期間に上・下両部の間で循環に依つて置換された水の容積

DA　：上部と外気との間に交換された熱量の差引 (下部と外気との直接の熱交換は無視する。地熱の影響も勿論無視する。交換は伝導・輻射・蒸発・降水等に依るものを含むと考える。)

上・下両部の 0°C を標準とする総熱量は夫々 T_aA, T_bB, 総塩素量は Cl_aA, Cl_bB となり，その或る期間中の変化は次の如く表わされる。但し A, B, は変らないものとし，湖水の密度，比熱の変化は無視する。

$$\begin{cases} \Delta(T_a A)=Q_1(T_1-T_0)-Q_2(T_0-T_s)-C(T_a-T_b)+DA, & (1) \\ \Delta(Cl_a A)=Q_1(Cl_1-Cl_0)-Q_2(Cl_0-Cl_s)-C(Cl_a-Cl_b), & (2) \\ \Delta(T_b B)= \qquad\qquad Q_2(T_2-T_s)+C(T_a-T_b), & (3) \\ \Delta(Cl_b B)= \qquad\qquad Q_2(Cl_2-Cl_s)+C(Cl_a-Cl_b). & (4) \end{cases}$$

上の式に於て $A=225\times10^6\text{m}^3$, $B=75\times10^6\text{m}^3$, T_a, Cl_a ; T_b, Cl_b ; T_0, Cl_0 ; T_s, Cl_s は夫々湖央部

の観測から，T_1 は気賀漁協前水温値を，Cl_1 は零を，又 T_2，Cl_2 は大王崎と野嶋崎に於ける定置観測の平均値を夫々とると，Q_1，Q_2，C，D を上の連立方程式の解として求める事が出来る。しかし上の岡田の式はある期間の既知量は全て同期間一定として解を求める事になつており，厳密には単位時間に於ける循環量，流入量を c，q_1，q_2 等と表わすと，例えば(3)式は

$$\frac{d(T_bB)}{dt}=q_2(T_2-T_s)+c(T_a-T_b) \qquad (5)$$

である。今著者は上の岡田の式によつて得た循環置換量[7]が Fig. 1 に示す如く上・下両部の安定度 ($\varDelta\sigma_t$) にほゞ逆比例していることから，下の如く

$$c=\frac{m}{\sigma_{tb}-\sigma_{ta}} \quad [\text{但し } m=\text{const}] \qquad (6)$$

と置き，さらに σ_t 及び T, Cl 等に就いては時間 t' から時間 t'' まで下の如く

$$\left.\begin{aligned}\sigma_t&=\sigma'_t+\frac{\sigma_t''-\sigma_t'}{t''-t'}(t-t')\\ T&=T'+\frac{T''-T'}{t''-t'}(t-t')\end{aligned}\right\} \qquad (7)$$

と直線的に変化すると考える。是に新しい量 m は湖水の攪乱に関係する量として意味があると考えられ，又上の仮定を入れる事は岡田の式より近似度を高め得ると考えた。こゝに $''$ 及び $'$ の附されたものは t''，及び t' に於ける値を示す。

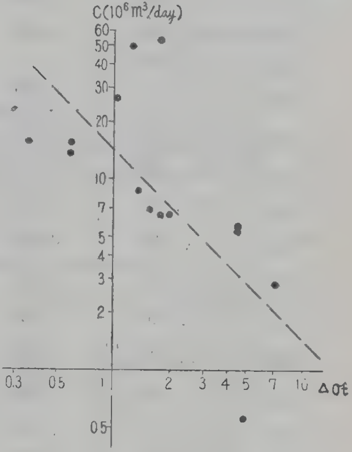


Fig. 1. Relation between the stability and the amount of circulation C.

(6)，(7)を代入して(5)を積分すると，

$$B(T''_b-T'_b)=q_2(t''-t')\left(\frac{T''_2+T'_2}{2}-\frac{T''_s+T'_s}{2}\right)+\int_{t'}^{t''}c(T_a-T_b)dt$$

$$=Q_2(T_2-\overline{T}s)+M\left[\frac{\varDelta T''-\varDelta T'}{\varDelta\sigma''_t-\varDelta\sigma'_t}+\frac{\varDelta T'\cdot\varDelta\sigma''_t-\varDelta T''\cdot\varDelta\sigma'_t}{(\varDelta\sigma''_t-\varDelta\sigma'_t)^2}\log\frac{\varDelta\sigma''_t}{\varDelta\sigma'_t}\right].$$

但し q_2 は一定とし，$M=m(t''-t')$，又 $T=\frac{T''+T'}{2}$，$\varDelta T=T_a-T_b$，$\varDelta\sigma_t=\sigma_{tb}-\sigma_{ta}$.

同様にして q_1 も亦一定と考えると，上の岡田の式は次の如く書き表わせる。

$$\begin{cases}A(T''_a-T'_a)=Q_1(\overline{T}_1-\overline{T}_0)-Q_2(T_0-\overline{T}_s)-M[X]+DA, & (8)\\ A(Cl''_a-Cl'_a)=Q_1(\overline{Cl}_1-\overline{Cl}_0)-Q_2(\overline{Cl}_0-\overline{Cl}_s)-M[Y], & (9)\\ B(T''_b-T'_b)=\qquad Q_2(\overline{Cl}_2-\overline{Cl}_s)+M[X], & (10)\\ B(Cl''_b-Cl'_b)=\qquad Q_2(\overline{Cl}_2-\overline{Cl}_s)+M[Y], & (11)\end{cases}$$

但し，

$$[X]=\left[\frac{\varDelta T''-\varDelta T'}{\varDelta\sigma''_t-\varDelta\sigma'_t}+\frac{\varDelta T'\cdot\varDelta\sigma''_t-\varDelta T''\cdot\varDelta\sigma'_t}{(\varDelta\sigma''_t-\varDelta\sigma'_t)^2}\log\frac{\varDelta\sigma''_t}{\varDelta\sigma'_t}\right],$$

$$[Y]=\left[\frac{\varDelta Cl''-\varDelta Cl'}{\varDelta\sigma''_t-\varDelta\sigma'_t}+\frac{\varDelta Cl'\cdot\varDelta\sigma''_t-\varDelta Cl''\cdot\varDelta\sigma'_t}{(\varDelta\sigma_t''-\varDelta\sigma'_t)^2}\log\frac{\varDelta\sigma''_t}{\varDelta\sigma_t'}\right],$$

$$\varDelta Cl=Cl_a-Cl_b.$$

上の連立方程式を解き，その1日当りの量 q_1，q_2，m，d 及び $1\,m^2$ の境界面を通して起る1日当りの循環置換量 c_S を求め，Table 1 に掲げる。

Table 1 に於て q_1，q_2，m は夫々物理的に負数量となる事が考えられないにも拘らず負数量となる期間が出現している。これらに関しては岡田光世氏 (1938)[5] は一応負数量となる期間を例外として除外されている。著者はこれら負数量の出現する期間及びこれらの期間の前後に正数量ではあるが法外に大きいと考

Table 1. Amounts of inflow, water exchange, heat exchange and "m" in Hamana Lake from June 1951 to Feb. 1954 on the basis of Okada's method.

Period	Inflow from Land q_1	Inflow from Open Sea q_2	m	Water Exchange c_S	Heat Exchange d
1951					
June 11~July 26	1.982	0.355	2.907	(0.089 0.026	
July 26~Aug. 14	0.491	1.784	19.745	(0.174 0.198	
Aug. 14~Sept. 14	−0.621	−0.583	−2.673	——	
Sept. 14~Oct. 23	2.298	4.938	43.367	(0.954 5.560	
Oct. 23~Nov. 20	4.837	6.991	56.796	(7.282 1.952	
Nov. 20~Jan. 24 (1952)	−0.897	−1.202	−1.126	——	
1952					
Jan. 24~Feb. 25	−0.224	0.105	−0.115	——	——
Feb. 25~Mar. 17	0.373	0.650	8.054	(2.685 1.342	0.232
Mar. 17~Apr. 23	1.289	0.387	8.162	(1.360 0.689	0.228
Apr. 23~May 16	3.000	0.205	11.669	(0.985 0.389	0.225
May 16~June 25	1.481	0.536	11.213	(0.374 0.680	0.129
June 25~July 28	3.579	0.293	1.981	(0.120 0.017	0.213
July 28~Aug. 18	3.957	0.168	27.558	(0.232 1.506	0.075
Aug. 18~Sept. 16	−5.651	0.709	−10.561	——	——
Sept. 16~Oct. 14	14.387	12.661	139.033	(2.228 6.766	−0.145
Oct. 14~Nov. 10	0.980	1.870	13.067	(0.636 0.336	−0.207
Nov. 10~Dec. 9	0.144	1.259	10.307	(0.265 0.680	−0.318
Dec. 9~Jan. 9 (1953)	0.169	1.506	10.105	(0.667 4.210	−0.205
1953					
Jan. 9~Feb. 11	−0.393	−0.158	−3.021	——	——
Feb. 11~Mar. 5	0.221	0.845	5.664	(1.642 0.803	−0.151
Mar. 5~Apr. 9	1.071	0.076	5.171	(0.733 0.308	
Apr. 9~May 11	0.682	0.906	12.990	(0.773 1.468	
May 11~June 15	4.404	1.124	20.385	(2.303 0.327	
June 15~July 7	3.824	1.473	13.233	(0.213 0.124	
July 7~Aug. 10	−2.001	0.112	0.174	(0.002 0.002	
Aug. 10~Sept. 15	0.230	−0.054	−1.390	——	
Sept. 15~Oct. 12	5.506	4.339	32.724	(0.292 0.369	
Oct. 12~Oct. 23	28.126	27.223	204.612	(2.304 2.723	
Oct. 23~Oct. 30	−2.526	2.563	15.695	(0.209 0.298	
Oct. 30~Nov. 10	8.157	2.823	14.320	(0.272 0.326	
Nov. 10~Nov. 30	1.212	4.837	29.255	(0.666 1.424	
Nov. 30~Dec. 9	3.869	11.988	60.176	(2.928 1.875	
Dec. 9~Jan. 12 (1954)	−2.370	−5.043	−25.922	——	
1954					
Jan. 12~Feb. 9	−0.451	−0.137	−3.255	——	

Suigetsu Lake (Okada, 1938)					
1934					
July 18～Aug. 24	0.147	0.346		0.043	0.158
Aug. 24～Sept. 16	0.278	0.352		0.024	0.142
Oct. 22～Dec. 11	1.072	0.420		0.232	−0.229
1935 Dec. 11～Mar. 3	0.743	0.124		0.069	−0.060

Note: Units of q_1, q_2 are $10^6 m^3$/day, unit of c_S m^3/day and d grcal/day/cc.

えられる量の出現する期間について観測データーを詳細に検討した結果，下部に於ても何らかの過程により直接（上部とは関係しないで）外気，地底との熱交換が考えられるのではないかと推察された。即ち(10)式は正しくは

$$B(T''_b-T'_b)=Q_2(T_2-\bar{T}_s)+M[X]+D'B \qquad (12)$$

と考えられる。是に D' は下部と外気（或は地底）との間に直接交換された熱量の差引である。

しかしこの条件を導入すると，(8),(9),(12),(11) の4式から Q_1, Q_2, M, D, D' の諸量を計算する事は出来ない。

今上に得た数値表（Table 1）に依ってわかる様に $|d|$ の値は 0.20 gr. cal/day/cc の order を越えていない。これは岡田光世氏が水月湖，日向湖で算出された値とも極めて良く一致しているので $|d|$ に対してはこの order の値が妥当であると考えられる。故に D' に於ても先づ

$$|d'|\approx 0\sim 0.20$$

と考えても大きな誤りはないと考えられる。但し d' は D' の1日当りの量。今 D' に対して上の値から得られる量を全て代入して計算する事は不可能なので，$|d'|=0.05$, 0.10 及び 0.20 の三つの場合を取上げ，諸量の計算を行い，物理的に意味のある数値のみを近似値として取上げる事にした。

即ち計算した値から各期間に於て最も真実性のある諸量を決定するために，陸水の流入量 Q' は主としてその期間の降水量に依って決定されうると考えられるから，浜松測候所に於けるその期間の降水と上に得た流入量 Q_1 との関係図（Fig. 2）を画き，Q_1 として降水量とほゞ直線関係にあると考えられる量のみを採用する事にした。（これらの操作はもし降水量と流入量との関係比例常数が決定され得たならば，上の連立方程式に依って諸量 Q_2, M, D, D' は直に計算されるわけである。）

以上の経過に依って求めた諸量を Table 2 に示す。これらの値は上の Table 1 に比べより正しく，意味あるものと考えられる。

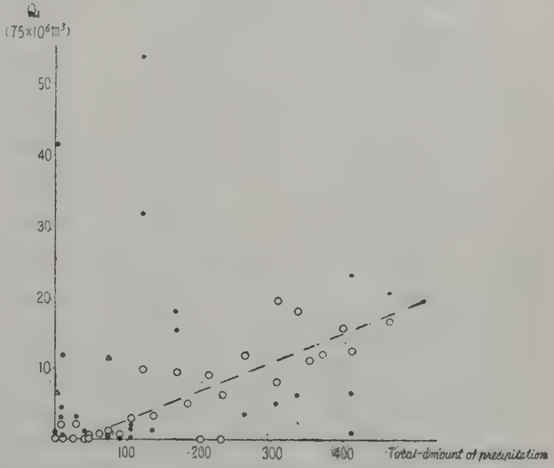


Fig. 2. Relation between total amount of precipitation and Q_1. ○: adopted value, △: adopted value because Q_1 is correlated to total amount of precipitation of last period and ●: unadopted value.

考　　察

上に得た諸量によつて貝毒研究に関連して浜名湖に於ける循環，流入等の年変化に就いて少しく考察を加えよう。

a) 外海からの流入量 q_3 に就いて

1951 年6月以降の観測データーによつたものであるが，1951 年

Table 2. Amounts of inflow, water exchange, heat exchange and "*m*" in Hamana Lake from June 1951 to Feb. 1954 by the new assumption.

Period	q_1	q_2	m	cs
1951				
June 11～July 26	1.982	0.355	2.907	0.089 0.026
July 26～Aug. 14	0	1.154	11.963	0.105 0.120
Aug. 14～Sept. 14	1.628	3.254	41.426	0.415 0.912
Sept. 14～Oct. 23	2.298	4.938	43.367	0.954 5.560
Oct. 23～Nov. 20	2.518	3.587	27.820	3.567 0.956
Nov. 20～Jan. 24, 1952	0	0.249	2.073	0.071 0.374
1952				
Jan. 24～Feb. 25	0	0.105	0.627	0.113 0.209
Feb. 25～Mar. 17	0.373	0.650	8.054	2.685 1.342
Mar. 17～Apr. 23	1.289	0.387	8.162	1.360 0.689
Apr. 23～May 16	3.000	0.205	11.669	0.985 0.389
May 16～June 25	1.481	0.536	11.213	0.374 0.680
June 25～July 28	3.579	0.293	1.981	0.120 0.017
July 28～Aug. 18	3.957	0.168	27.558	0.232 1.506
Aug. 18～Sept. 16	0	3.589	35.412	1.935 0.568
Sept. 16～Oct. 14	2.646	3.066	33.571	0.538 1.634
Oct. 14～Nov. 10	0.980	1.870	13.067	0.636 0.336
Nov. 10～Dec. 9	0.144	1.259	10.307	0.265 0.680
Dec. 9～Jan. 9, 1953	0.169	1.506	10.105	0.667 4.210
1953				
Jan. 9～Feb. 11	0	0.413	2.699	1.125 0.782
Feb. 11～Mar. 5	0.221	0.845	5.641	1.642 0.803
Mar. 5～Apr. 9	1.071	0.076	5.171	0.733 0.308
Apr. 9～May 11	0.682	0.906	12.990	0.773 1.468
May 11～June 15	3.549	0.326	9.743	1.101 0.157
June 15～July 7	3.824	1.473	13.233	0.213 0.124
July 7～Aug. 10	0	little	little	very little
Aug. 10～Sept. 15	2.527	0.984	9.039	0.085 0.081
Sept. 15～Oct. 12	5.506	4.339	32.724	0.292 0.369
Oct. 12～Oct. 23	4.439	8.372	58.066	0.654 0.773
Oct. 23～Oct. 30	0	2.563	15.695	0.209 0.298
Oct. 30～Nov. 10	0	1.613	6.856	0.130 0.156
Nov. 10～Nov. 30	0.810	4.103	24.825	0.565 1.208
Nov. 30～Dec. 9	1.717	6.683	29.720	1.446 0.926

1954 Dec. 12～Jan. 12	0.565	4.226	20.708	(0.645 4.184)
1954 Jan. 12～Feb. 9	0	1.337	1.922	(0.388 0.233)

Note: Units of q_1, q_2 are $10^6 m^3$/day, unit of c_S m^3/day.

6月～ 1954 年2月に至る間秋季に顕著に大きいことを示している (Table 2)。これは秋季は台風シーズンでもあり，高潮その他気象条件によつて流入量が増大するのではないかと考えられる。尚1953年秋季は9月 25 日に来襲した 13 号台風に依つて今切口湖口が拡大し，以後流入量が激増し，2月まで続いている。このため湖央の塩素量は漸次増加の一途を辿つている。

b) *m* に就いて 湖水の擾乱に関係する循環係数とも言うべき *m* を変化さ

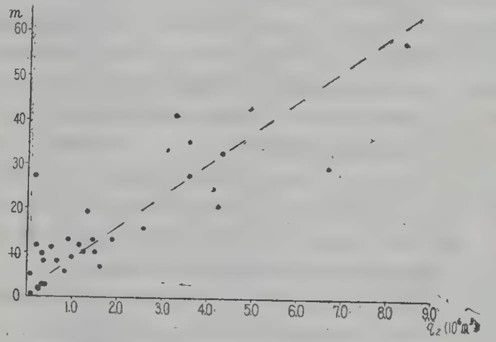


Fig. 3. Relation between q_2 and m.

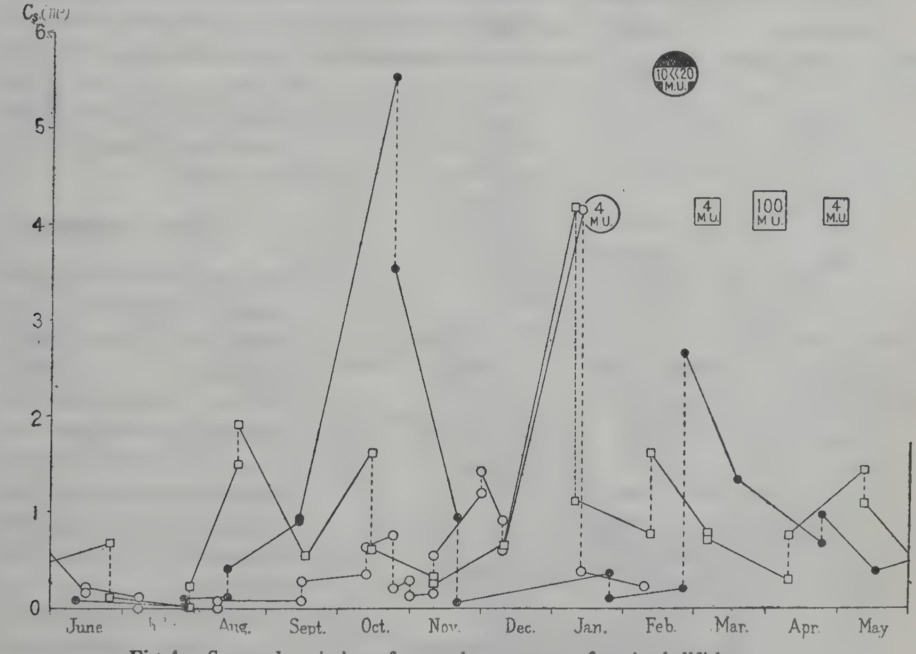


Fig. 4. Seasonal variation of c_S and occurrence of toxic shellfish.

M.U. is mouse unit. ●: 1951—1952, □: 1952—1953 and ○: 1953—1954.

せる原因については風・降雨・外海水の流入等による湖水の擾乱が考えられる。これらについて浜松測候所に於ける風の観測と *m* との関連性及び浜松測候所に於ける降水量と *m* との関連性をしらべたが何ら関連を見出す事は出来なかつた。しかし今 *m* と q_2 との関係図 (Fig. 3) を画くと *m* と q_2 とが相当に高い相関をもつている事が伺われる。即ち湖水の擾乱は外海水流入量の多寡に依つて決せられるのではないかと考

えられる。

c) c_sに就いて　最後に貝毒発生に最も関連すると思われる上・下部の循環置換量 c_s に就いて述べよう。今 Fig. 4 の如く c_s の年変化を示すと各年秋季或は冬季に一度最大値へを示す。この時期が所謂る対流に依つて循環置換が行われる時であろう。これによつてわかる様に所謂る循環期と称する冬季に於て対流現象が卓越する時期はその期間を通じて引続き循環置換量が多いわけでなく，秋季或は初冬季に一度大きい循環が行われるに過ぎない。今図に於てこの循環置換量最大時期と各年の貝毒発生時期とを比較すると，(貝毒資料は東海水研・神名孝一氏による。) 1951～1952 年度は循環最大時期から約 4 ケ月後，又 1952～1953 年度は約 3 ケ月後に貝毒の最大発生量を見ている。しかし 1953～1954 年度は循環最大時期の直後に既に貝毒の発生を見注目される。又夏季の成層状態を観察すると 1951 年に比べ 1952 年の夏季成層状態は悪く，8 月～9 月に相当量の循環置換が起つていることは図によつて明かであり，もし夏季の成層状態に応じて湖底に毒が生成されるとすれば，1953 年の貝毒量が 1952 年のそれに比べて大である事はうなづけない。一方 1953 年夏季は前の二年に比べて夏季の成層状態が極めてよい。野口氏の推論から見れば 1954 年度の貝毒発生の危険性は前二年に比べて大であると言う事になるが前二年の状況から見て夏季の成層状態から翌年の貝毒発生の多寡を即断する事は危険な様に思われる。

尚 Table 1 に示す如く岡田氏による水月湖の c_s と浜名湖に於ける c_s とを比較すると，夏季成層の極端に発達する時期（比較的短期）を除いては浜名湖に於ける c_s が極めて大きく，order にして 1 位或はそれ以上も大きい。これは浜名湖が全体的に水月湖（日向湖もほぼ同じ）に比べ循環が非常に激しい事を示していると考えられる。そしてその原因としては水月湖，日向湖の水深が 33m～37m で比較的深く，浜名湖は 10m 内外で浅いためであろうと考えられる。以上の如く水理学的考察からは野口博氏の推論を肯定する条件は得られなかつた。しかし今後更に硫化水素或は湖底質の調査等により精密な化学的調査が必要であると思われる。

Fig. 5. Stations where current envelopes were released and recovered and the pattern of the current in Hamana Lake.

海流封筒による湖流調査

最後に1953年 8 月20日浜名湖分場の御協力を得て海流封筒による湖流調査を行つたので併せて報告する。海流封筒はビニール製で淡紅色に着色した半透明の防水封筒で投入後垂直に立つ様に砂袋がついている。(尚この海流封筒は既に沖合黒潮流調査に使用し従来の海流瓶と同等の成果を上げており，安価で且持運びに便である事は海流瓶の比でない。)

海流封筒投入位置，日時，枚数；拾上位置，枚数；漂流距離，漂流時間，漂流推定速度等は Fig. 5 及び Table 3 に示し，海流封筒の漂着及びその報告書から表面平均流を Fig. 5 に示す如く推定した。海流封筒の投入後数日間は西

Table 3. Recovery of the Current Envelopes Released In Hamana Lake

Released Point : A (Mouth of Hmana Lake), Released Date : 21—10 : 00, Total Released : 20, Total Recovered 0, Recovery Rate : 0

Roleased point : B (East of Hachibeize), Released Date : 21—10 : 30, Total Released : 10, Total Recovered 6, Recovery Rate : 0.316

Points Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/hour)	Estimated Velocity (m/hour)
B_1	4h 30m	1,180 m	262.2	262.2
B_2	23h 30m	1,100 m	38.6	
B_3	29h 30m	1,650 m	55.9	84.0
B_4	25h 00m	1,860 m	74.4	
B_5	25h 00m	2,100 m	84.0	
B_6	243h 02m	70,000 m	288.1	288.1

Released Point : C (East off Shinba), Released Date : 21—11 : 00, Total Released : 18, Total Recovered : 8, Recovery Rate : 0.444

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/houy)	Estimated Velocity (m/hour)
C_1	4h 05m	2,450m	600.0	684.4
C_2	4h 30m	2,600m	577.8	
C_3	29h 00m	3,500m	120.7	
C_4	5h 20m	3,650m	684.4	
C_5	579h 30m	4,140m	0.7	209.3
C_6	29h 00m	4,300m	148.3	
C_7	21h 30m	4,500m	209.3	
C_8	22h 40m	4,850m	214.4	214.4

Released Point : D (off Kuroiwazaki), Released Date : 21—13 : 30, Total Released : 20, Total Recovered : 7, Recovery Rate : 0.350

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/hour)	Estimated Velocity (m/hour)
D_1	19h 00m	550m	28.9	28.9
D_2	74h 20m	550m	7.4	
D_3	——	550m	——	
D_4	21h 45m	1,200m	55.2	55.2
D_5	5h 00m	2,200m	440.0	530.0
D_6	5h 00m	2,200m	440.0	
D_7	5h 05m	2,650m	530.0	

Released Point : E (Center of Lake), Released Date : 21—13 : 57, Total Released : 20, Total Recovered : 4, Recovery Rate : 0.200

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/hour)	Estimated Velocity (m/hour)
E_1	61h 58m	1,650m	26.6	89.2
E_2	20h 43m	1,640m	79.0	
E_3	20h 43m	1,750m	84.3	
E_4	20h 43m	1,850m	89.2	

Released Point : E′ (off Shinjo), Released Date : 21—11 : 40, Total Released : 6, Total Recovered : 3, Recovered Rate : 0.500

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/huor)	Estimated Velocity (m/hour)
E_1'	22h 50m	3,200m	140.1	172.1
E_2'	49h 20m	3,380m	68.7	
E_3'	20h 20m	3,500m	172.1	

Released Point : F (Mouth of Inohana Lake), Released Date : 21—12 : 05, Total Released : 21, Total Recovered : 2, Recovery Rate 0.095

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/hour)	Estimated Velocity (m/hour)
F_1	142h 25m	6,560m	46.0	48.3
F_2	208h 58m	10,100m	48.3	

Released point : G (off Shirasu), Released Date : 21—15 : 18, Total Released : 24, Total Recovered : 6, Recovery Rate : 0.250

Point Recovered	Estimated Drifting Time	Drifting Distance	Mean Drifting Velocity (m/hour)	Estimated Velocity (m/hour)
G_1	145h 28m	600m	4.1	
G_2	30h 22m	1,000m	33.0	33.0
G_3	129h 57m	1,000m	7.7	
G_4	131h 17m	2,100m	16.0	48.3
G_5	81h 42m	3,950m	48.3	
G_6	359h 35m	4,200m	10.6	10.6

Accumlated Rate of Recovery from (A+B+C+D+E+E′)=28/103=0.272
(B+C+D+E+E′) =28/83 =0.337
(F+G) =8/45 =0.178

Note : Alphabetical notations for released and recovered points correspond to those in Fig. 5.

風が卓越していたが猪鼻湖湖口で投入した封筒が貝毒化地帯（八兵衛瀬，碇瀬）附近を漂流して今切に着いている事が注目され，貝毒研究に関連して猪鼻湖の海況調査の必要性を暗示している様に思われる。又上の事から考えて E，E′ 点で投入した封筒も風の影響のみに依つて庄内村西岸に漂着したとは考えれらず，湖央を中心に反時計廻りの大きな環流（Circulation）が存在するのではないかと思われる。一方沖合から湖口に入つた水の一部は舞阪町寄りに北上し，第一鉄橋附近から雄踏町沖に入り，浜名湖の東湖を廻り，村櫛村沿岸に沿い湖央の庄内村西岸に沿つて北上する様に思われる。(この他浜名湖に於ける潮汐流は鷲津沖即ちほゞC点附近迄であり湖口からこの地点附近までは流出入同時に存在せず，どちらか一方の流れとなつているという事が 1950 年4月～1951 年3月までの上・下潮時に於ける浜名湖分場の観測結果から一見して推察される。)[1),2),7)]

尙F，G点で投入した海流封筒の回収率が良くないのは封筒そのものに不備な点のあつた為と考えられる。これらを除き他の点で流したものの回収率は可成り良好である。又A点で投入されたものは一枚も回収されなかつたが，これは今切の瀬戸では渦動，波浪等による擾乱が甚しく，沈没或は埋没してしまつたのではないかと考えられる。

此の稿を終るに当り，浜名湖海況調査を不断に続けて居られる静岡県水産試験場浜名湖分場長野口博氏，技師角谷英明氏その他場員の方々に深く敬意を表す。又種々御世話や御助言を賜つた以上の方々や右田正男博士，栗田晋氏，渡辺信雄氏，神名孝一氏に対し厚く感謝する。

文献及び資料

1） 静岡水試浜名湖分場 昭和 25 年度 第6報，第9報，(1950).

2） 静岡水試浜名湖分場時報 昭和 26 年度 第2報，(1951)，昭和 27 年度 第2号，第5号，(1952)，昭和 28 年度 第1号，第4号，(1953).

3） 静岡水試浜名湖分場雑報 昭和 27 年度 第 11 号～第 13 号，(1952)，昭和 28 年度 第1号～第6号，(1953).

4） アサリ及びカキ中毒の研究，文部省，昭和 25 年3月及び昭和 27 年3月

5） 岡田光世："水月・日向両湖に於ける海水の潜入と水月湖に於ける硫化水素の発生(予報)"，日水会誌，**6**，(6)，(1938).

6） 須田晥次："水月湖異常現象の一考察"，海と空，**15**，(10) (1935).

7） 平野敏行："貝毒防止の為の浜名湖調査に関する予報"，パンフレット (1953).

[Reprinted from the Bulletin of the Chemical Society of Japan, Vol. 27, No. 7 (1954)]

*On the Distribution and Variation of Nutrient Salts in the Adjacen Water to the Aleutian Islands in the North Pacific**

By Rinnosuke FUKAI

(Received February 27, 1954)

Introduction

Oceanographical observations in the salmon fishing ground have been carried out in the region adjacent to the Aleutian Islands on board R. V. "Tenyo-maru", covering over 80 days from May to July in 1952. The author has been engaged in these observations and had an opportunity of analysing a number of water samples on board the vessel. On the basis of the data obtained in the field as well as in the laboratory, the distribution and variation of nutrient salts in the waters of this region have been considered in the present paper.

Although the sea region under consideration has been regarded as one of the most important fishing grounds of the world together with the vicinity of Newfoundland and the North Sea, systematic investigations concerning chemical problems in this region have scarcely been reported except those carried out by Ratomanov (1936)[1] and Barnes and Thompson (1938)[2]. Even in the comprehensive investigation conducted by Barnes and Thompson, the regions mainly concerned were restricted to the eastern side of long. 180° while little information on the Eastern Hemisphere has been available up to now.

Some problems related to the consumption of nutrient salts by marine organisms will also be discussed here.

The Sea Region under Consideration

The region under study is located within the square enclosed by the longitudes of 170°E and 180° and the latitudes of 50°N and 55°N, extending over both sides of the Aleutian Ridge as it is indicated in Fig. 1 with

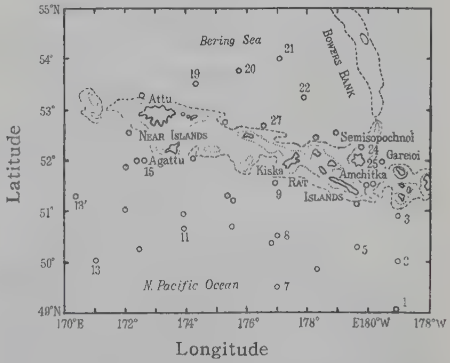


Fig. 1. Oceanographical Stations and Bottom topography near the Western Aleutian Islands. Dotted and broken lines indicate bottom contours of 200 m. and 500 m. depths, respectively.

oceanographical stations and bottom contours. As shown in the figure, the Bering Sea covers an area north of the ridge and the southern area is covered with a portion of the North Pacific. In this region, the Bering Sea forms a very deep basin, while in the east part off the region it becomes much shallower to form the continental shelf of Alaska.

Collection of Samples and Analytical Methods Adopted

Determinations of phosphate-phosphorus, silicate-silicon and dissolved oxygen were made on board ship as soon as possible after collection. Water samples for chlorine and nitrate-nitrogen determinations were brought to the author's laboratory

* Contribution B-No. 137 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo, Japan.

1) C. E. Ratomanov, "Research of the Sea", Vol. 2, Moscow, 1936 (in Russian with English summary).

2) C. A. Barnes and T. G. Thompson, University of Washington "Publications in Oceanography", Vol. 3, No. 2 (1938).

(Tokyo) and analysed. To the samples for nitrate determination mercuric chloride solution was added in order to avoid the change in concentration due to bacterial growth.

The improved method of Denigès-Atkins[3] was adopted for the determination of phosphate-phosphorus. In this method color development was accomplished by the original procedure, but sea water free from phosphate was used as the media of diluted standards.

Silicate-silicon was estimated by means of Dienert-Wandenbulcke's method in which a buffered potassium chromate solution containing borax was adopted as the color standard. It was standardized against sodium silicate solution both with Beckman's spectrophotometer and by the visual method[4]. Color comparison aboard ship was performed by using improved Hehner tubes with the length of 25 cm.

Stock solutions of standards for phosphate and silicate determinations were prepared in duplicate, one of which served as reference and the other as the working standard, both being checked against each other from time to time. After the completion of the cruise it has been confirmed that the changes in concentration of the reference were negligibly small during the period.

Dissolved oxygen was determined by means of Winkler's iodometric titration[5]; and for chlorine determination the argentometric titration using uranine as the indicator[6] was adopted.

Determination of nitrate-nitrogen was made by colorimetric methods using Harvey's reduced strychnine reagent; and as the artificial color standard the standardized safranine solution was used[7].

Results and Discussion

1. Distribution of Water Temperature and Chlorinity.—As mentioned above, the region under consideration is topographically devided into two areas by the Aleutian Ridge running through the central part of the region. Therefore, it may be convenient to examine the distributions of water temperature, chlorinity and so on separately, by area. Data obtained from several stations within each area in the first decade of June were averaged and considered as representative values for each area.

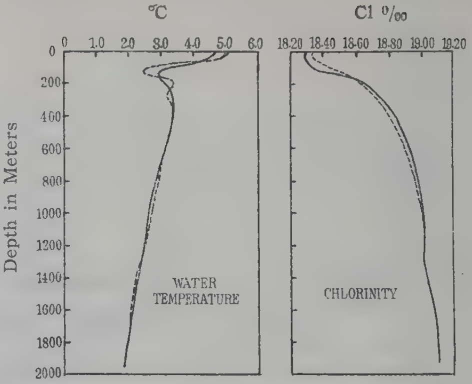


Fig. 2. Vertical distributions of water temperature and chlorinity. Solid lines represent the distributions in the Pacific side of the Aleutian Ridge, and broken lines those in the Bering Sea.

Fig. 2 shows vertical distributions of water temperature and chlorinity. From the figure it is clear that distributions of water temperature are quite identical in both areas except for slight differences recognized beyond a depth of 200 m. A characteristic feature of the distribution of water temperature in this region is that the marked temperature minimum and the gentle maximum appear at depths of 100 m. and 400 m., respectively. Below the depth of 400 m. the water temperature falls gradually and the gradients of the fall are much gentler than those in other regions such as tropical waters.

Distributions of chlorinity in these areas also are almost identical and chlorinity increases continuously with depth.

Close agreements in vertical distributions both of water temperature and of chlorinity between these areas suggest that horizontally uniform water masses may exist there. This type of distribution is in striking contrast to those in the Kuroshio or equatorial region.[8]

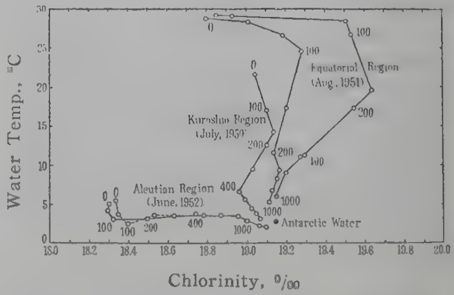


Fig. 3. Temperature-Chlorinity diagram representing water masses in various regions. Numbers in the figure indicate the depths in meters at which temperature and chlorinity for each point were obtained.

3) R. J. Robinson, *J. Mar. Res.*, **7**, 33 (1948).
4) R. Fukai, *J. Oceanogr. Soc., Japan*, in press.
5) W. S. Wooster, "Technical report of the California Cooperative Sardine Program", No. 25, Scripps Inst. of Oceanogr. (1950).
6) Y. Miyake, This Bulletin, **14**, 29 (1939).
7) H. Wattenberg, *Rapp. et Proc.-Verb. des Reunions, Conseil permanent intern. pour l'explosation de la mer*, **103**, 19 (1937).

8) R. Fukai, This Bulletin, **26**, 485 (1953).

In Fig. 3, T–Cl curves which were previously obtained by the author are compared with those from the present data. It should be noticed that although T–Cl curves differ greatly from each other in the upper layers, they tend to converge on a point which represents water temperature and the chlorinity of a water mass having Antarctic origin.

2. Distribution of Dissolved Oxygen.—Vertical distributions of dissolved oxygen in these two areas are shown in Fig. 4 compared

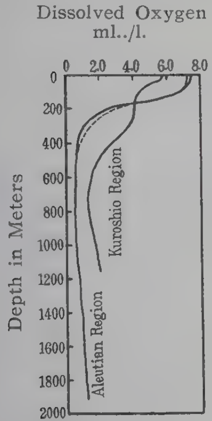


Fig. 4. Vertical distributions of dissolved oxygen. Solid lines: in the Pacific; broken line: in the Bering Sea.

with those in the Kuroshio region. The distributions in the areas are in close agreement with each other as well as those of water temperature and chlorinity. As for characteristic features of the distribution, it may be pointed out that high contents of oxygen are encountered at and near the surface and they suddenly decrease in depths within 100–300m. forming a jumping layer. Oxygen at depths of 400–1000 m. is less than 1 cc. 0_2/l., being the minimum value among those oceanic waters of the North Pacific.

As shown in Table I, a remakable fact is

TABLE I
AVERAGE CONTENTS OF DISSOLVED OXYGEN IN THE UPPER LAYERS

Depth m.	O_2 ml./l.		Saturation percentage
	obs.	calc.	
0	7.37	7.23	101.9
10	7.44	7.29	102.1
25	7.46	7.34	101.6
50	7.36	7·37	99.9
75	7.24	7.53	96.1
100*	6.99	7.62	91.7
150	4.94	7.50	65.9

* The layer of minimum water temperature.

that the oxygen contents at the layers of 10 m. and 25 m. are higher than at the surface. This may probably result from photosynthesis by phytoplankton, since this type of distribution without biological support would be destroyed by the strong turbulence prevailing in the region.

The thickness of the euphotic layer may be estimated to be about 50 m. from the fact that the oxygen content at 50 m. layer is just saturated whereas the contents above this layer are supersaturated.

3. Distribution of Phosphate-phosphorus and Nitrate-nitrogen.—Vertical distributions of phosphate and nitrate are given in Fig. 5.

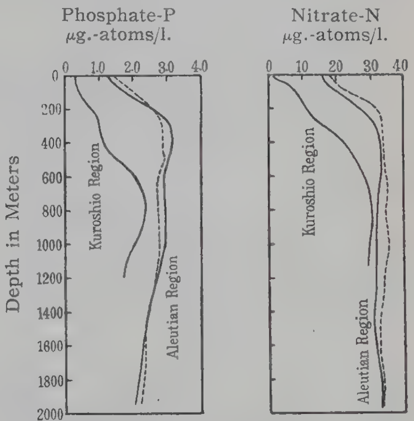


Fig. 5. Vertical distributions of phosphate-phosphorus and nitrate-nitrogen. Solid lines: in the Pacific; broken lines: in the Bering Sea.

The distributions of each of the constituents are almost the same in the two areas. The causes of slight differences recognized between the areas are not clear. Yet it may be remarkable that the phosphate contents at depths within 200–800 m. are lower in the waters of the Bering Sea than in the other area, while the contents of nitrate are higher in the former than in the latter.

Characteristics of the vertical distributions are that the high contents of both constituents are found at and near the surface and that the concentrations increase abruptly in a layer corresponding to the jumping layer of dissolved oxygen. The maximum amount of phosphate appears at a depth within 400–600 m., while the maximum of nitrate is not obvious. Attention is called to the fact that considerable amounts of both constituents (above 1.0 μg.-atoms PO_4-P/l. and 150 μg.-atoms NO_3-N/l.) were present in spite of the fact that abundant crops of phytoplankton existed there. The fact means that the nutrient salts in the upper layers have not been exhausted so that potential ability for organic production could still remain in the layers.

4. Distribution of Silicate-silicon.—Fig. 6 illustrates vertical distribution of silicate in the areas compared with those in the Kuroshio region and in the Northeast Pacific. As

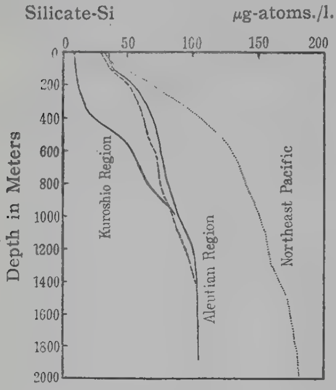


Fig. 6. Vertical distributions of silicate-silicon. Solid lines: in the Pacific; broken line: in the Bering Sea; dotted line: in the Northeast Pacific obtained by Thompson (1938).

in cases of other constituents, considerable amounts of silicate are found at the surface and they further increase in the deeper layers. Referring to some differences in distributions between two areas, the contents are slightly lower on the side of the Bering Sea. It is conspicuous that the distributions differ greatly from those obtained by Thompson.

5. Relationship between Distributions of Nutrient Salts.—As described above, the prevailing features of the nutrient salt distribution are summarized as follows:

(i) Distributions are horizontally uniform except those in limited areas such as the vicinity of islands,

(ii) concentrations are high even in the surface layer,

(iii) and increase further with maximum gradients in depths within 100–300 m.

From the type of distributions, it is expected that parallel correlation may exist between concentrations of these constituents. From Fig. 7 which shows the correlation between phosphate and nitrate, it is concluded that the average atomic ratio of N:P is 12, although points plotted in the figure are somewhat scattered. This value is lower than the normal ratio of 15 proposed by Cooper[9]. As the author has recently pointed out[10], the ratios in the waters below subsurface

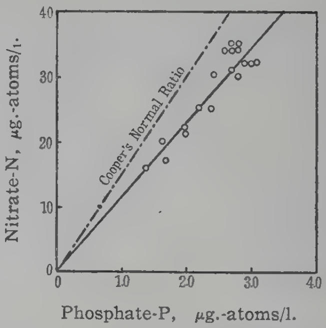


Fig. 7. Relationship between nitrate-nitrogen and phosphate-phosphorus in the adjacent region to the Aleutian Islands.

layers in the Kuroshio region coincide with the normal ratio. So far it has not been conclusive, however, whether the deviation from the normal ratio in the Aleutian region is attributed to local differences or related to the rate of regeneration of these constituents.

In case of the regeneration of these constituents, in general, dissolved oxygen would be consumed. The relationship between phosphate contents and oxygen depletion (the difference between the saturation value and observed value) is shown in Fig. 8. Oxygen depletion may serve as a measure of oxygen consumption.

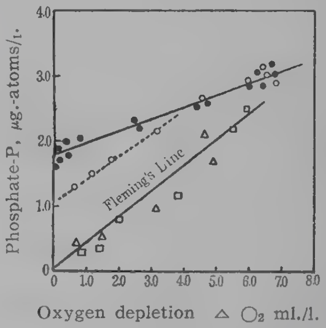


Fig. 8. Relationship between phosphate-phosphorus and oxygen depletion in various regions. Dots designate points for the Aleutian Region in 1st decade of June; circles for those at the end of June. Squares: for the Kuroshio Region; triangles: for the Equatorial Region.

In the figure, was added a line which was proposed by Fleming[11] on the basis of the proportion between liberated oxygen and as-

9) L. H. N. Cooper, *J. Mar. Biol. Assoc., United Kingdom*, **22**, 177 (1938).
10) R. Fukai, This Bulletin, **25**, 323 (1952).

11) R. H. Fleming, "Proc. the 6th Pacific Science Congress", Vol. 3 (1939).

similated phosphorus, both due to photosynthesis. It can be stated that points plotted for the Kuroshio and Equatorial regions are in close agreement with Fleming's line, while the slope of the line derived from the points for the Aleutian region differs greatly from that of Fleming's line. In addition, the slope had been altered in the course of time and it came to coincide with that of Fleming's line after about a month. This indicates that a constant ratio between phosphate and oxygen depletion has not been maintained during the period and that the decrease in dissolved oxygen has taken place in association with the decrease in phosphate contents in the subsurface layer. Although the mechanism of this decrease in dissolved oxygen may be complicated, it may relate to the decomposition processes in the layer in question. The deficiency of dissolved oxygen in the subsurface layer should be emphasized as a feature in the Aleutian region together with the deviation of N-P ratios from the normal ratio.

6. Quantitative Consideration on the Rate of Organic Production by Phytoplankton.—In the above it has been concluded that the potential ability for organic production still remained in this region at the beginning of June. As the duration of this condition depends upon the rate of organic production, it is desirable to find out the production rate.

Oceanographical observations were repeatedly carried out at sea around 150 nautical miles S. of Attu Island on June 5–6 and 29–30. Table II has been made by averaging a number of data obtained from several stations occupied there. On these materials the following computations have been based.

TABLE II

DATA USED FOR THE ESTIMATION OF THE PRODUCTION RATE

Water layer m.	June 5–6		June 29–30	
	Water temp. °C	PO_4-P μg-at./l.	Water temp. °C	PO_4-P μg.-at./l.
0–25	4.50	1.33	6.08	0.93
25–50	4.29	1.47	5.12	1.19
50–75	4.00	1.60	4.03	1.41

At first, the rise in water temperature may be expressed by

$$\frac{\partial T}{\partial t}=\frac{A_z}{\delta}\cdot\frac{\partial}{\partial z}\left(\frac{\partial T}{\partial z}\right)-V_x\cdot\frac{\partial T}{\partial x}\,, \qquad (1)$$

where, T is water temperature, A_z, coefficient of eddy diffusivity, δ, specific gravity of sea water, and V_x, current velocity component along x-axis.

In the equation, we may conveniently take x-axis from the west to the east and z-axis from the surface to the bottom. In equation 1, the lateral mixing of water masses was ignored because the horizontal gradients of water temperature were so small; and current velocity components except that along x-axis were of no account.

Let us rewrite equation 1 as

$$A_z=\delta\left(\frac{\partial T}{\partial t}+V_x\cdot\frac{\partial T}{\partial x}\right)\Big/\frac{\partial^2 T}{\partial z^2}\,. \qquad (2)$$

Since gradients of temperature distribution, current velocity component and specific gravity of sea water are known, we can obtain the value of A_z from the equation 2. The calculated values of A_z are shown in the first column in Table III.

TABLE III

COMPUTED VALUES FOR NET PRODUCTION RATE

Water layer m.	A_z	R PO_4-P μg.-at./l./sec.	Net production rate mg.C/m³./day
0–25	(10)	-5.1×10^{-7}	56
25–50	10	-1.0×10^{-7}	11

On the other hand, the decrease in phosphate contents during the period may be expressed by

$$\frac{\partial C}{\partial t}=R+\frac{A_z}{\delta}\cdot\frac{\partial}{\partial z}\left(\frac{\partial C}{\partial z}\right), \qquad (3)$$

where C is concentration of phosphate R, biological rate of change (rate of net consumption).

In equation 3, the horizontal eddy diffusion and advection were ignored since the horizontal distribution of phosphate was uniform as previously stated. From Eq. 3, we may obtain

$$R=\frac{\partial C}{\partial t}-\frac{A_z}{\delta}\cdot\frac{\partial^2 C}{\partial z^2}\,. \qquad (4)$$

Then, on the basis of Eq. 4, the value of R can be calculated by introducing into the equation the values of A_z, which have been obtained from Eq. 2, and gradients in phosphate distribution. The values of R thus obtained for each layer are shown in the second column in Table III.

Since photosynthesis by phytoplankton is usually accompanied by the consumption of phosphate, the rate of carbon assimilation can be computed as in the third column of Table III from the values of R, using the proportion given by Fleming.

Few data have been available for comparing these values, except those which were derived from Reiley's data concerning the annual

variations of plankton carbon on Georges Bank[12] (Table IV). The values for the Aleutian region agree well with the value for the spring burst of phytoplankton given by Riley.

TABLE IV

NET PRODUCTION RATES COMPUTED FROM THE DATA OBTAINED BY RILEY ON GEORGES BANK (1947)

Period	Net production rate mg.C/m³./day
Feb.–Mar.	4
Mar.–Apr.	20
Apr.–May	50

Most recently, Nielsen[13] has pointed out on the basis of the results obtained from the determinations using radiocarbon C^{14} that the production rates hitherto estimated were too high, especially in the tropical regions, criticizing the experiments carried out by Riley[14] in the Sargasso Sea. However, Nielsen himself has admitted that Riley's values are reliable so far as the waters on the coastal bank are concerned.

Thus, if we assume that the organic production continues at the rate obtained above, and that the nutrient supply from the substratum is prevented by the development of stratification, the potential ability for organic production is reckoned to last for about 20 days more. Consequently, the production may actually continue till the end of summer without deficiency in nutrient salts.

7. Estimation of the Production Rate based upon the Diurnal Variations of Dissolved Oxygen.—Anchored observations on the diurnal variations of oxygen throughout 24 hours were carried out at Station 24, situated north of Semisopochnoi Island, in the last decade of May. Results obtained are shown in Fig. 9. Values plotted for dissolved oxygen in the figure represent integral mean concentrations from the surface to a depth of 50 m. Although the water was shifted continuously by tidal current during the period, the temperature and chlorinity of water were kept strictly constant. For this reason, it can be assumed that the changes in dissolved oxygen were caused by biological activity in a water mass.

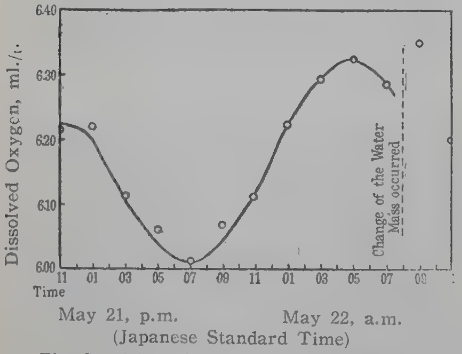


Fig. 9. Diurnal variation of dissolved oxygen at St. 24, off Semisopochnoi Island.

According to the figure, the net increase in the oxygen content amounting to 0.3 ml/l. took place in 10 hours from 7:00 P. M. to 5:00 A. M. (Japanese Standard Time). When this amount of oxygen is converted into the amount of assimilated carbon, we may obtain 165 mg.C/m³.

On the other hand, the author's experiment[15] showed that in case of the carbon assimilation by phytoplankton, 30–50% of assimilated carbon was simultaneously consumed through the respiration processes. Consequently, an estimate of 85 mg.C/m³/day for the net production rate may be obtained by subtracting the quantity for respiration from the net quantity for assimilation during 10 hours.

This value is considered to represent the upper limit for the assimilation rate, since it was estimated for the area in the vicinity of an island, and since carbon was also consumed by zooplankton possessing no assimilating activity. With these views in mind, the values based upon the phosphate consumption seem to be reliable.

Summary

The author was engaged in the oceanographical observations carried out in a region adjacent to the Aleutian Islands in 1952 and obtained a number of data, on which the present discussions are based.

As the results, slight differences in distributions of nitrate-nitrogen, phosphate-phosphorus and silicate-silicon were found between the northern and southern areas separated by the Aleutian Ridge, although distributions are almost the same in the two areas.

Characteristic features in distributions of these nutrient salts are that the high concentrations were found even in the surface layer, increasing further with maximum gradients in depths within 100–300 m.

The ratios of N:P in the region under

12) G. A. Riley, *J. Mar. Res.*, **6**, 104 (1947).
13) E. S. Nielsen, *J. Couseil. perm. intern. pour l'exploration de la mer*, **18**, 117 (1952).
14) G. A. Riley, *J. Mar. Res.*, **2**, 145 (1939).

15) R. Fukai and K. Okubo, not yet published.

study are lower than the normal ratio given by Cooper; and deficiencies in dissolved oxygen were recognized in the subsurface layers. These facts seem to be related to the characteristics of the decomposition processes in the Aleutian region.

On the basis of the rate of phosphate consumption in the upper layers, the net production rate has been computed by introducing some simplifying assumptions; and has obtained the value of 56 mg. $C/m^3/day$. This value is considered to be reliable, since it coincides with that derived from Riley's data and with that calculated from the data concerning the diurnal variations of dissolved oxygen.

The author is pleased to acknowledge his indebtedness to Prof. Kenjiro Kimura of Tokyo University and Dr. Masao Migita of the Takoi Regional Laboratory for their valuable advice. Acknowledgement is made to Mr. N. Watanabe, who was the leader of the present cruise, for his encouragement and cooperation during the course of the work. The author desires to express appreciation also for the valuable assistance of Miss F. Shiokawa and Miss S. Kojima in the laboratory and all of the members of R. V. "Tenyô-maru," without whose assistance the present work would hardly have been accomplished.

Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo

[Reprinted from the Bulletin of the Chemical Society of Japan, Vol. 27, No. 7 (1954)]

Seasonal Variations of Minor Chemical Constituents in the Waters of the Zunan-Kuroshio Region. II. Silicate Contents of Sea Water and Changes in Quality of the Kuroshio*

By Rinnosuke FUKAI

(Received March 20, 1954)

Introduction

In the previous paper[1], the author has studied the problem concerning variations of nitrate and phosphate contents in the waters of the Kuroshio region. The present paper deals with the seasonal variations of silicate contents of water in connection with the changes in quality of the Kuroshio. Although silicate has been regarded as one of the most essential nutrient salts for marine organisms, especially for diatoms, together with phosphate and nitrate, it differs from the other nutrient salts in respect to circulation, the magnitude of the concentration and the physiological significance for organisms.

The author previously made a chemical study on Omura Bay[2] (Nagasaki prefecture, Japan), reporting that, contrary to general expectation, silicate contents of sea water in the estuary of the Kôri river were lower than in the adjacent areas. In this case, however, the physico-chemical state of silicon-compounds colorimetrically determined has not been made clear.

Later, a number of studies were conducted by various authors as to the state of silicon-compounds colorimetrically estimated[3][4], changes in silicate coloration when sea water was diluted with natural fresh water[5] and the state of silicon-ccompounds in hot springs and land waters[6], yielding valuable results.

Although a decisive conclusion has not been reached up to now, it is probable that the most part of silicon-compounds in the oceanic waters may be in a colorimetrically measurable state[7], seasonal variations of which were mainly considered in this paper, not referring to the state of silicon-compounds.

Materials and the Analytical Method

The following discussions are based upon the data obtained for the samples collected from the oceanographical stations illustrated in Fig. 1 of the previous report during the period from January 1950 to Feburuary 1951. The analyses of the samples were carried out as soon as possible after

* Contribution B-No. 144 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo.

1) R. Fukai, This Bulletin, **25**, 323 (1952).

2) R. Fukai, M. Osako and H. Hamada, *Ocearogr. and Meteorol., Nagasaki Marine Observatory,* **3**, No. 3 (1949) (in Japanese).

3) F. Aoki, *J. Chem. Soc. Japan*, **71**, 634 (1950); **72**, 15 (1951).

4) T. Okura, *J. Chem. Soc. Japan*, **72**, 927 (1951).

5) A. Saeki, *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **5**, 41 (1949); **6**, 39 (1950).

6) I. Iwasaki, T. Katsura & T. Tarutani, This Bulletin, **24**, 227 (1951).

7) T. Chow and R. J. Robinson, *Anal. Chem.*, **25**, 646 (1953).

collections either on board ship or on the land, depending on the sea conditions in each observation cruise.

For the analysis was adopted the Dienert-Wandenbulcke's method in which the yellow color of silicomolybdate was developed by addition of ammonium molybdate solution and sulfuric acid. Although further reduction of silicomolybdate by stannous chloride provides the more sensitive method[8], the ordinary method was followed with regard to conditions on board ship. For the color comparison were used the color standard of buffered potassium chromate solution containing borax and improved Hehner tubes with the length of 25 cm., or Beckman's spectrophotometer at a wave length of 380 mμ. Checking experiments were made as to the changes in concentration of silicate which occurred during the standing period of the samples, proving that no change was recognized unless water samples were kept in contact with the glass walls of containers.[9]

Results and Discussions

In order to examine the seasonal variations of silicate in the region under study, it is necessary to distinguish the variations in the surface layers (0–200 m.) from the fluctuations of vertical distributions. The former may be related to prevalence or decline of coastal water masses; and the latter to vertical mixing of water strata due to mechanical disturbance and vartical diffusion.

1. Variations in the Surface Layer.—Variations of silicate contents in the surface layers (0–100 m. and 100–200 m. layers) with those of chlorinity (in 0–100m. layer) at Stations 3 and 6 are shown in Figs. 1 and 2, respectively. The values plotted in the figures are the integral mean values for each water layer.

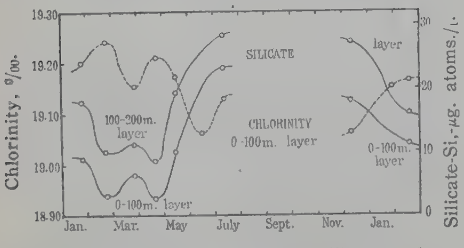


Fig. 1. Seasonal variations of silicate and chlorinity in the surface layers at Station 3. Solid curves: silicate. Broken curves: chlorinity.

From the figure, it is readily noted that chlorinities of the waters in the region decreased in summer, while they increased in winter. It seems to be a remarkable fact that the decrease at Station 6, which is located within the main current of the Kuroshio and is not likely to be affected immediately by land waters, is larger than that at Station 3 located in the mixing region of the Kuroshio with coastal water masses. This may suggest that the decrease in chlorinity of the Kuroshio itself ought to take place before the Kuroshio flows into the region under consideration.

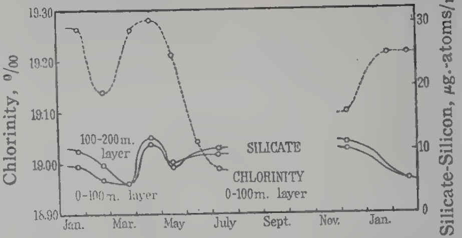


Fig. 2. Seasonal variations of silicate and chlorinity in the surface layers at Station 6. Solid curves: silicate. Brokenc curves: chlorinity.

Silicate contents tend to increase in summer and decrease in winter, being contrary to the variations in chlorinity. This inverse proportionality is remarkable at Station 3. Although the relationship may indicate that silicate contents fluctuate in accordance with the prevalence or decline of coastal water masses, quantitative correlations do not exist.

Now, let us assume that the maximum chlorinity of 19.30‰ represents the normal chlorinity of water in the Zunan-Kuroshio region and that the normal sea water of the region is only mixed up with the fresh water; moreover, let us define the mixing percentage of fresh water, M_f, as follows;

$$M_f = \frac{[\mathrm{Cl}]_n - [\mathrm{Cl}]_s}{[\mathrm{Cl}]_n} \times 100 \qquad (1)$$

where $[\mathrm{Cl}]_n$ is the normal chlorinity, namely 19.30% in this case, and $[\mathrm{Cl}]_s$ is the chlorinity in summer.

The values of mixing percentage calculated from the equation 1 did not exceed 2% as shown in Table I. On the basis of the mixing percentage and silicate contents of sea water in summer, silicate contents of assumed fresh water were computed as shown in the last column of Table I. Among these values, the one for July 1950 is three times higher than the mean value for river waters in Japan. This may indicate that the variations of silicate contents in the surface layers are not controlled only by direct invasion of terrestrial water, even at Station 3, located relatively coastward.

8) A. B. Carlson and C. V. Banks, *Anal. Chem.*, **24**, 472 (1952).
9) R. Fukai, *J. Oceanogr. Soc. Japan*, in press.

TABLE I

ESTIMATED SILICATE CONTENTS OF FRESH WATERS

	ΔCl ‰	Percentage of fresh water mixed	Si in sea water µg.-at./l.	Estimated Si of fresh water mg.-at./l
Station 3				
May 1950	0.13	0.7	9.7	0.5
July ,,	0.17	0.9	27	2.5
Station 6				
May 1950	0.09	0.5	8.2	1.2
July ,,	0.31	1.6	9.3	0.3

As the other origin of *excess silicate* in sea water, the following may be considered:

(1) the silicate-rich substratum,

(2) the decomposition processes of abundant populations of diatoms in summer,

(3) a water mass having high silicate content and low chlorinity.

Among these cases, the former two can hardly be accepted, since the Kuroshio is a stably stratified and origotrophic water mass of the southern origin. Therefore, the last case should be most probable. It cannot be immediately concluded, however, where the origin of a mixing water mass is.

In the variations of silicate and chlorinity, the conditions are quite different between Stations 3 and 6. This suggests that the causes of the variations are not the same at these stations. Whereas it is probable that the variations in the main current of the Kuroshio are being affected by the water of southern origin such as the adjacent water to Formosa or the water of the East China Sea, the effect of the Oyashio might be taken into consideration as the cause of the variation at Station 3, since the Oyashio from the northern areas of the N. W. Pacific prevails along the coastal region of Japan in summer months.

In order to estimate the silicate content of a water mass of northern or southern origin which is likely to mix with the Kuroshio, the mixing percentage of water masses is computed by using the following equation, defining the normal chlorinity of each water mass from the data previously obtained[10,11];

$$M=\frac{[\mathrm{Cl}]_n-[\mathrm{Cl}]_s}{[\mathrm{Cl}]_n-[\mathrm{Cl}]_m}\times 100. \qquad (2)$$

The notations in Eq. 2 are the same as in Eq. 1, except that $[\mathrm{Cl}]_m$ designates the postulated chlorinity for the mixing water mass.

From the values in Table II, it may be concluded that the actual circumstances are not explained so far as only the mixing of different sea waters is concerned. Consequently, the mixing with both fresh and sea water must be taken into consideration.

TABLE II

ESTIMATED SILICATE CONTENTS OF WATER MASSES MIXED WITH THE KUROSHIO

(July 1950)

Water mass	Cl ‰ of water mixed	Mixing percentage	Estimated Si of water mixed µg.-at./l.	Si found in the Kuroshio µg.-at./l.
Northern				
Station 3	18.35	17.9	130	30
Station 6	18.35	32.6	20	30
Southern				
Station 3	17.50	9.4	250	—
Station 6	17.50	17.2	30	—

As described above, the variations of silicate contents in the surface layer are complicated. Nevertheless, it is noteworthy that silicate which appears to originate primarily from land waters is related to the changes in quality of the oceanic water mass such as the Kuroshio.

2. Variations below the Subsurface Layer.—The variations of silicate below the subsurface layer cannot be discussed simply. In general, vertical distributions of silicate contents tend to have parallel correlations with those of phosphate above a depth of 1000 m. In the Kuroshio region, phosphate contents reach the maximum at a depth of about 1000 m., while silicate contents increase continuously.

In Fig. 3 is given the relationship between silicate and phosphate contents above the maximum layer of phosphate, together with the data obtained as to the water samples

10) R, Fukai, This Bulletin, in press (1954).

11) Y. Matsudaira and S. Inoue, *J. of Oceanography, Imperial Marine Observatory, Kobe, Japan*, 705 (1939).

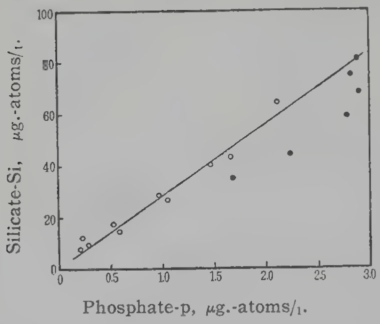


Fig. 3. Relationship between silicate and phosphate. Circles: for the Kuroshio region. Dots: for the Aleutian region.

collected from the Aleutian region. Points in the figure were plotted on the basis of the annual mean values for each of the constituents. A close linear correlation was obtained from these values, although the data for each month were considerably fluctuated. The mean value of Si : P was 28. On the other hand, no linear correlations recognized as to the points for the Aleutian region.

Deviations from the mean ratio of Si : P in the Kuroshio region are especially large in the upper layers. Although relatively close values were obtained as to the waters below subsurface layers, the values tend to fluctuate due to mixing with the waters of deeper layers.

In Fig. 4 are shown the annual mean vertical distributions of silicate and examples of vertical distribution for summer and winter. For a comparison, the vertical distributions obtained by various investigators[12] from the North Pacific were added.

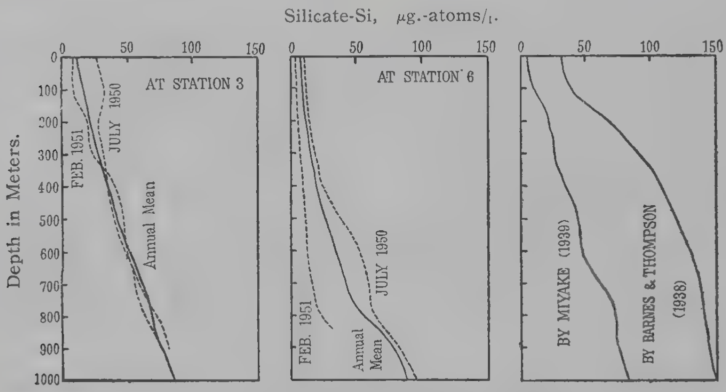


Fig. 4. Vertical distributions of silicate.

Although the causes for the fluctuation of vertical distributions are not obvious, it should be noted that the whole water column tends to become uniform at Station 6 in winter, suggesting that the mixing with the waters of the substratum due to convection process which may be acting as the controlling factor.

The variations of silicate in the surface layers tend to have an inverse proportionality with those of chlorinity, increasing in summer while decreasing in winter. It is not sufficient to consider that the cause of the variations merely lies in the mixing either with fresh waters from the coast of Japan or with a water mass having low chlorinity and high silicate content. The actual circumstances may probably be caused by the overlapping effect of these two causes.

Summary

Seasonal variations of silicate have been considered in the present paper on the basis of the data obtained from the observations carried out from January 1950 to February 1951.

Although the fluctuation of vertical distributions of silicate below subsurface layer was also complicated, a close linear correlation between annual mean silicate contents and those of phosphate was obtained, to be expressed as the Si : P ratio of 28. However, the vertical distributions fluctuated considerably in the course of time, tending to become uniform in winter.

As the conclusion, it may be estimated that the vertical and lateral mixing of water

12) Y. Miyake, This Bulletin, **14**, 467 (1939); C. A. Barnes & T. G. Thompson, "Univ. of Washington Publ. in Oceanogr.", **3**, No. 2 (1938).

masses is the prevailing factor for the variations of silicate in the region under consideration.

Sincere acknowledgement is made to Prof. Kenjiro Kimura of the Tokyo University for his encouragement and valuable advice during the course of the investigation. The critical reading of the manuscript of Dr. Masao Migita of the Tokai Regional Laboratory is also acknowledged. The author desires to express appreciation for the assistance and untiring zeal of Miss F. Shiokawa throughout the course of the study.

Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo

Critical Studies on the Analytical Methods for Minor Chemical Constituents in Sea Water.
Part I.* On the Estimation of Phosphate-phosphorus

By

R. Fukai

Abstract: The analytical method for phosphate in sea water has been studied by using Beckman's Quarz spectrophotometer. Some knowledge concerning the maximum absorption of phosphate coloration, the condition of color development, the salt effect and the standing time for color comparison after the addition of reagents has been obtained. On the basis of the results of the experiments, brief descriptions of analytical procedures have been given.

Introduction

On the method for estimation of phosphate-phosphorus in sea water, a large number of investigations have been carried out up to now by various authors. Most of these investigations have concerned with Denigès-Atkins' method, the standard procedure adopted by the committee elected during the annual meeting of the International Council for the Exploration of the Sea at Copenhagen in 1935.[1] This may be attributed to a fact that the method is sufficiently sensitive and reproducible in spite of simplicity in procedure, although some uncertainty has remained in the reaction mechanism.

However, the values obtained for so-called "salt error" by various investigators have not coincided with each other, while there have been different opinions as to the cause of the salt error. It is probable that the disagreement might be resulted from differences in either conditions or methods for color comparison adopted by various investigators. When the method is applied to the analyses of sea water samples, the most serious difficulty encountered is that the color tint of the standard developed in distilled water medium does not match against the tint produced in sea water samples due to the presence of salts or some retarding materials affecting color development. At this point arbitrariness for the color comparison may remain to introduce the disagreement of the results obtained by various investigators. Although the matter

* Contribution B-No. 149 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo, Japan.

has much been improved by using the solution of sodium chloride as the media of standard solutions, the difficulty has not been removed perfectly.

Recently, the photoelectric methods for color comparison have been advanced by Harvey (1948)[2] and Wooster and Rakestraw (1951)[3] in order to remove the disadvantages caused in the visual procedure. In the laboratory of the author the determinations of phosphate in sea water have also been performed by means of a Beckman's spectrophotometer since 1951.

In the present paper have been reported the results of experiments about the analytical procedures, such as the condition of color development, the standing time for color comparison, the salt effect and so on, together with some recommendation and consideration for the photoelectric method of phosphate analyses.

All of spectrophotometric measurements have been carried out by using a Beckman Model DU Quarz Spectrophotometer with 10 mm. Corex cells.

Experimental Results and Discussion

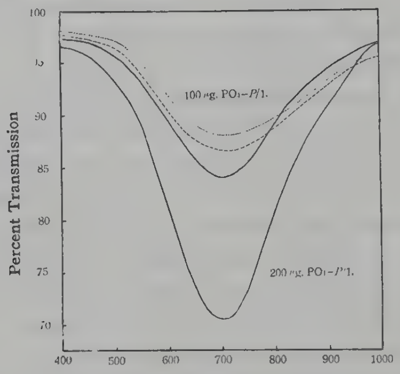


Fig. 1. Maximum absorption of phosphate coloration in various media. Solid curves; in distilled water. Broken curve; in NaCl solution. Dotted curve; in sea water.

1. Maximum Light Absorption of Molybdenum Blue formed by Phosphate-molybdate Reaction—As preliminary experiments was measured percent transmission of molybdenum blue which was formed by the reaction between molybdate solution and phosphate solutions, containing 100 and 200 $\mu g.\ PO_4-P/1.$; and the subsequent reduction by stannous chloride solution. The measurements were

carried out over the range of wave length from 400 to 1000 mμ at intervals of 25 mμ. The results of the measurements are shown in Fig. 1. In the figure were added absorption curves for developed phosphate solutions, each containing 100 μg. PO_4-P/1., media of which were sea water (Cl=18.9‰) and sodium chloride solution (Cl=about 20‰), respectively. The reagents used for color development were 0.2 ml. of ammonium molybdate-sulfuric acid mixture (1:3) and a drop of stannous chloride solution for each 10 ml. sample.

From the figure it is evident that the maximum absorption of molybdenum blue takes place at a wave length of 700 mμ and that the absorption decreases in the media of sea water and sodium chloride solution within visible part, especially near 700 mμ, while increases in infrared part.

Kalle (1934)[4] previously made a study on the absorption of developed phosphate solution by means of Zeiss' Pulfrich Photometer, stating that the maximum absorption was appropriately measured by adopting S-72 filter and that the absorption curves in distilled water and artificial sea water media were almost the same, except in the part near ultraviolet. In this part, he continued, the absorption in artificial sea water was much higher than in distilled water. He concluded, on the whole, that the measurements would not be affected by the medium of phosphate solution so far as a spectrophotometer was employed. However, the statement does not agree with the results from the present experiments. The disagreement must have been brought forth by the difference of light sources applied to the measurements, because strict monochromatic rays were adopted to the present experiments in place of Kalle's light sources having considerably wide range of wave length.

The fact indicates that the salt effect must be taken into consideration when distilled water is used as the media of phosphate standards, even if a spectrophotometer would be available. However, since the wave length of the maximum absorption lies at 700 mμ in any medium, it is convenient to adopt the wave length of 700 mμ for optical measurements.

2. Conformability with the Beer's Law—In view of the fact mentioned above, all of the subsequent measurements concerning optical densities of colored solution were carried out at the wave length of 700 mμ. In Fig. 2 are shown relationships between concentrations and optical densities of phosphate solution. From the figure it is concluded that the Beer's law is accepted to the color range of developed solution with concentrations, at the highest, of 100 μg. PO_4-P/1. and that the dilution of samples or interpolation method must be

applied when the concentration of phosphate exceeds the limit. Although it is possible to perform direct color comparison with samples collected from the oceanic stations, since phosphate contents of oceanic waters do not exceed the limit of 100 μg. PO_4-*P*/l., precautions should be taken against treating samples of high concentration, such as waters of sheltered bays and culture fluids.

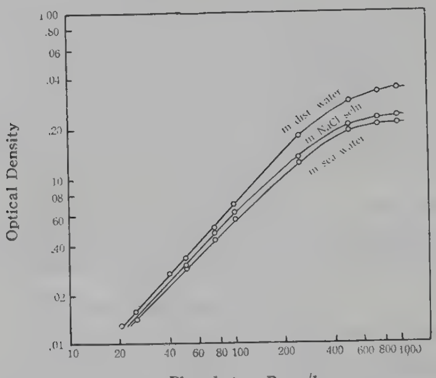


Fig. 2. Relationship between concentrations and optical densities of phosphate solutions at a wave length of 700 mμ.

3. **Condition of Color Development**—On the same occassion, Kalle conducted a detailed study on the condition of the color development, determining the quantities of molybdate-sulfuric acid reagent and stannous chloride reagent to be added to a sample. In the author's judgment, however, it is desirable to increase the sensitivity of analysis when determinations are performed in semi-microscale for minute samples having a volume of 5-10 ml. such as dealt with here.

In recent studies on the analytical method, it has been recommended to add a quantity of stannous chloride more than that originally proposed by Atkins (1923)[5]. However, if the adding quantity is increased, blank values for the solution containing no phosphate would also become greater and the formation of colloidal precipitations in distilled water medium be accelerated so that the color comparison could hardly be carried out. The author has proved experimentally that the addition of 3—5 mg. Sn for 100 ml. sample is suitable for spectrophotometric analysis using the procedures in semimicroscale. A comparison of the adding quantity of tin employed by various investigators is given in Table 1.

Table 1

Quantities of tin added to 100 ml. sample by various authors

Author		Sn mg. added
Atkins	(1923) [5]	0.3
Wattenberg	(1937) [1]	0.5
Robinson & Thompson	(1948) [6]	2.3
Harvey	(1948) [2]	0.45—0.65
Wooster	(1950) [7]	2.2
Fukai	(1954)	3—5

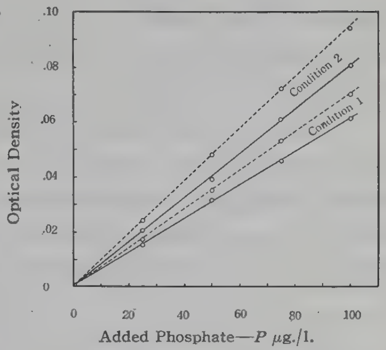


Fig. 3. A comparison between conditions of color development for phosphate in various media.
Solid lines; in sea water.
Broken lines; in distilled water.

In Fig. 3 are given relationships between phosphate concentrations and optical densities of coloration in different conditions of color development. In Condition 1, Wattenberg's procedure in macroscale (1937) was reduced into semimicroscale in that condition, and the adding quantity of tin was increased

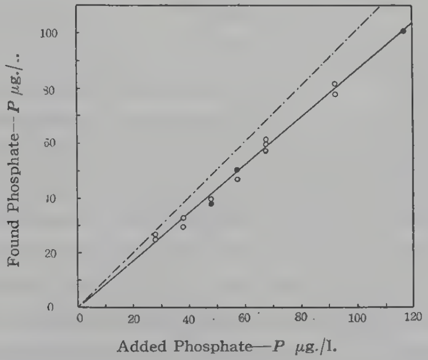


Fig. 4. Apparently found phosphate in sea water medium by visual measurements.
Chain line designates one to be drawn without the salt effect.
Black dots; points for two measurements.

in Condition 2. Measurements for coloration in both sea water and distilled water media were made on each condition. Correction factors for the salt effect in Conditions 1 and 2 are 1.17 and 1.19, respectively. These values are in close agreement with the value of 1.17 which was obtained by visual

comparison being shown in Fig. 4. This may suggest that the retarding action of dissolved salts for color development was being caused in a definite proportion at each wave length.

4. **Time for Standing after the Addition of Reagents and the Effect of Tempetature**—On the occasion of the optical measurements, the effect of the standing time after the addition of reagents and the temperature should be taken into consideration. An example of experimental results obtained on the standing time at 18°C is illustrated in Fig. 5. It can be stated from the figure that the measurements should be performed after a standing time for 5—15 minutes at the temperature in order to obtain the maximum sensitivity. However, errors, if any, caused by fading would not be so serious as long as a uniform condition for standing was followed. When the adding quantity of stannous chloride increased in distilled water medium, colloidal precipitation formed after a 40-minute standing, causing an increase in extinction of the solution due to scattering of light by suspending particles.

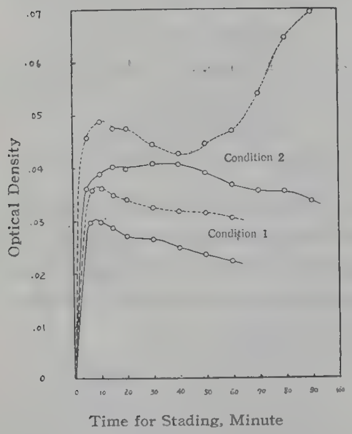


Fig. 5. Variations of phosphate coloration in the course of time in various conditions of color development. 50 μg. PO_4-P/l. Solid lines; in sea water. Broken lines; in distilled water.

From the results of measurements at various temperatures, it is recognized that the time for getting to the maximum coloration tends to extend with falling temperature and the fading to accelerate with rising temperature. However, no quantitative correlation between developed color and temperature could be deduced due to differences in intensities of reagents used for each measurement. Therefore, it is recommended that the standardization should preferably be repeated for every day's work, since in case of measurements various conditions might be involved.

5. **Analytical Procedures proposed**—On the basis of the results mentioned above the following procedures for analysis are proposed:

(i) Reagents used

(1) Standard solution (stock solution). 439 mg. KH_2PO_4/100 ml. (con-

taining a few drops of chloroform-toluol mixture). One ml. of this solution contains 1 mg. PO_4-*P*.

(2) Ammonium molybdate solution. 10%. Filter off insoluble matter.

(3) Sulfuric acid. Concentric sulfuric acid is diluted to 1:1 with distilled water.

(4) Stannous chloride solution. About 0.1 gr. of tin metal is dissolved in 2 ml. concentric hydrochloric acid; eight ml. of distilled water is added after about a 20-minute standing and insoluble matter is filtered off. The solution cannot be used longer than a day.

Table 2

Arrangements of Standard Series

1.	D. W. 10 ml.	for reagent blank
2.	S. W. 9 ml. + D. W. 1.0 ml.	for blank
3.	〃 〃 + 〃 0.9 ml. + D. S. 0.1 ml.	10 μg. PO_4-*P*/1.
4.	〃 〃 + 〃 0.8 ml. + 〃 0.2 ml.	20 〃 〃
5.	〃 〃 + 〃 0.6 ml. + 〃 0.4 ml.	40 〃 〃
6.	〃 〃 + 〃 0.4 ml. + 〃 0.6 ml.	60 〃 〃
7.	〃 〃 + 〃 0.2 ml. + 〃 0.8 ml.	80 〃 〃
8.	〃 〃 + D. S. 1.0 ml.	100 〃 〃
9.	〃 〃 + D. W. 1.0 ml.	for blank
10.	D. W. 10 ml.	for reagent blank

D. W.: Distilled water. S. W.: Stored sea water.
D. S.: Diluted standard (working standard)

(ii) Standardization

(1) Working standard. A standard solution containing 1 mg. PO_4-*P*/1. will be obtained by 1000-fold dilution of the stock solution.

(2) Two series of standards as shown in Table 2 are prepared by further dilution of the working standard.

(3) Measurements on the standard series are carried out at the beginning and the end of daily work.

(4) Color development; 0.1 ml. of molybdate-sulfric acid mixture (1:3) is added to each of the 10 ml. standards, being kept in glass-stoppered test tubes, and then the test tube is stoppered and turned upside down for 4—5 times in order to mix up the contents.

After 0.03 ml. (one drop) of stannous chloride reagent is added and mixed up as fast as possible, let the test tube stand.

(5) After a exact 10-minute standing from the addition of stannous chloride reagent, the extinction of developed blue color is measured at a wave length of 700 mμ using distilled water as the reference.

(6) From the extinction values obtained against each concentration is subtracted the blank value. These are plotted for phosphate concentration, to prepare a standardization curve.

(iii) Treatment of Samples

(1) Color is developed by the same procedure as the case of standards, and the extinction is measured.

(2) For turbid water samples, the extinction value only of water should be measured, which is to be subtracted from that of developed samples.

(3) The reagent blank is subtracted from the values of the extinction obtained above, from which phosphate contents of samples are to be obtained on the basis of the standardization curve.

In the procedures described above, one extinction measurement may have done in about two minutes and it may be easy to treat a hundred or more samples a day under a normal circumstance for the work.

Summary

The author has studied on the analytical method for phoshate in sea water by using Beckman's Quarz spectrophotometer, carrying out experiments on the condition of color development, the standing time for color comparison, the salt effect and so on. The results obtained are as follows:

1. The maximum light absorption of molybdenum blue coloration takes place at a wave length of 700 mμ in both distilled water and sea water media. Percent transmission of the solution at the wave length of 700 mμ is increased by the presence of dissolved salts.

2. The coloration of developed phosphate solution is conformed with the Beer's law in concentrations, at the highest, of 100 μg. PO_4-P/1.

3. It has been recommended to use 3—5 mg. of tin per 100 ml. sample for measurements in semimicroscale.

4. The mean factor for salt correction obtained was 1.18, in close agreement with the value obtained by visual measurements.

5. The maximum coloration was reached after a 5—15 minute standing after the addition of the reagents at 18°C.

6. Although it has been recognized that the time required for getting the maximum coloration tends to extend with falling temperature and the fading to quicken with rising temperature, a quantitative correlation between phosphate coloration and temperature could not be deduced.

7. On the basis of the results obtained, practical procedures for phosphate analysis has been proposed.

Acknowledgements

Acknowledgement is made to Dr. Yasuo Miyake of the Meteorological Research Institute for his valuable advice as well as his critical reading of the manuscript. The technical suggestions rendered by Mr. H. Hirao of the Tokai Regional Laboratory are also appreciated.

Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo, Japan.

References

(1) H. Wattenberg (1937): "Methoden zur Bestimmung von Phosphat, Silikat, Nitrit, Nitrat und Ammoniak im Seewasser," Rapp. et Proc.-Verb., Cons. Perm. Intern. pour l'exploration de la mer, **103**, 11.

(2) H. W. Harvey (1948): "The estimation of phosphate and of total phosphorus in sea water," Jour. Mar. Biol. Assoc., United Kingdom, **27**, 337.

(3) W. S. Wooster and N. W. Rakestraw (1951): "The estimation of dissolved phosphate in sea water," Jour. Mar. Res., **10**, 91.

(4) K. Kalle (1934): "Meereskundliche chemische Untersuchungen mit Hilfe des Zeiss'schen Pulfrich-Photometers. III Mitteilung. Methodische Untersuchung der Phosphatgehaltsbestimmung," Ann. der Hydrogr., **62**, 65.

(5) W. R. G. Atkins (1923): "The phosphate contents of fresh and salt waters in its relationship to the growth of algae plankton," Jour. Mar. Biol. Assoc., United Kingdom, **13**, 119.

(6) R. J. Robinson and T. G. Thompson (1948): "The determination of phosphates in sea water," Jour. Mar. Res., **7**, 33.

(7) W. S. Wooster (1950): "Method in chemical occeanography employed in the California Cooperative Sardine Research Program," Thechnical Report No. 25, Nov. 1950, Univ. of Calif., Scripps Inst. of Oceanography.

Critical Studies on the Analytical Methods for Minor Chemical Constituents in Sea Water
Part 2.* Some Notes on the Determination of Silicate

By

R. FUKAI

Abstract: The Dienert-Wandenbulcke's method for determination of silicate in sea water has critically been studied by means of Beckman's spectrophotometer and the author has obtained some notes bearing upon conditions for photoelectric measurements and the salt effect. The results obtained from simple series of experiments on the preservation of sea water samples have also been reported.

Introduction

Although a large number of studies on the method for the determination of silicate in sea water have been made in regard to problems of the condition for the color development, the salt error and the color standard to be used, it appears that decisive conclusions have not yet been attained with respect to either the mechanism of yellow color formation accomplished by so-called Dienert-Wandenbulck's method(1) or the molecular state of silicon compounds from which the color formation is resulted. As molecular states of silicon compounds in natural waters, four states, namely, ionic, molecular dispersed, colloidal and solid particulate, are commonly known,(2) some of which are supposed to be interchangeable each other during the natural processes such as mixing of fresh and sea waters or changes in hydrogen ion concentrations of natural waters.(3) Although one has recently become to believe that the colorimetrically measurable states of silicon compounds are ionic and molecular dispersed,(4) the conclusion is not always generally accepted. However, it may be considered that dispersed or dissolved states of silicon in oceanic waters would be an equilibrium, a major part of which is in colorimetrically measurable states, since oceanic waters, in general, contain only low quantities of silicate compared with other natural waters. In the present paper, the method for the colorimetric estimation for silicate has been concerned without entering

* Contribution B-No. 151 from the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, Tokyo, Japan.

into the fundamental problem of the molecular states of silicon compounds.

On the basis of the results obtained by various authors, the problems dealt with in this paper are, in the first place, the types of absorption curves of permanent color standards; secondly, the salt error; and thirdly, the preservation of sea water samples.

For the measurements Beckman Model DU Spectrophotometer with 10 mm. Corex cells was used. By applying this instrument for the determination, the volume of each sample required for analysis could be reduced as small as a tenth of that for ordinary procedure; and measurements could be carried out with errors within 3 percent.

Experimental Results and Discussion

1. Preliminary Experiments—A silicate standard solution containing 115 mg. SiO_2/l. was prepared by dissolving anhydrous sodium silicate in distilled water and filtering off insoluble matter to preserve in a glass bottle, the interior of

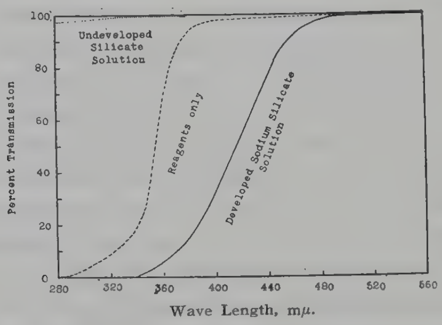
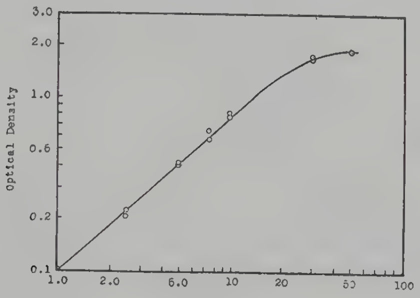


Fig. 1. Absorption curve for heterosilicomolybdate complex together with those for reagents only and undeveloped solution. (Equivalent to 10 mg. SiO_2/l)

which was coated with paraffine. The silicate content of the solution was determined gravimetrically. By dilution of this standard solution was prepared a solution containing 10 mg. SiO_2/l., to which ammonium molybdate reagent (10% solution) and sulfuric acid (1:1) were added; and percent transmission of the developed solution was measured by means of spectrophotometer ranging over wave lengths from 280 mμ to 540 mμ, using distilled water as the reference. Besides, percent transmission of distilled water, to which only reagents were added, and that of undeveloped silicate solution were measured, comparing

these absorption curves with that of developed silicate solution in Fig. 1. It is evident from the figure that absorption of heterosilicomolybdate complex apparently begins at about 500 mμ, increasing abruptly at the edge of visible part and becoming to show complete absorption at 340 mμ. However, the absorption only of the reagents increases also on entering into ultraviolet range, so that the blank value would increase if a wave length in ultraviolet part were adopted for optical measurements, lowering the accuracy for determination. Since the undeveloped silicate solution has no appreciable absorption in ultraviolet part, it may be removed from the subject of present discussion. Therefore, it may be appropriate to choose a wave length of 380 mμ as the most convenient for optical measurements of silicate coloration.



SiO_2 mg./l.

Fig. 2. Relationship between concentrations and optical densities of silicate at a wave length of 380 mμ.

In order to examine the conformability of the silicate coloration with the Beer's law, optical densities of developed silicate solutions ranging 0.5–50 mg. SiO_2/l. were measured at a wave length of 380 mμ. The relationships between concentrations of silicate and optical densities are shown in Fig. 2.

From the figure it is obvious that the Beer's law was strictly followed by silicate coloration below a concentration of 10 mg. SiO_2/l., while above the limit deviations from the linear correlation appeared. Therefore, dilution procedure should be recommended for samples containing high concentrations. Since the salt effect should be taken into consideration in case of the dilution, the use of sea water having a chlorinity as same as that of samples will be desirable.

When a Pulfrich photometer is applied to color comparison, the conformability with the Beer's law is not held even at low concentrations due to occurrence

of silicomolybdate absorption at and near the edge of visible part, as previously pointed out by Robinson and Spoor (1936)[(5)].

2. Absorption Curves for Various Color Standards—Many years, solutions of pricric acid and potassium chromate have been adopted as color standards for visual color comparison. In Fig. 3 absorption curves for picric acid and potassium chromate solutions are compared with that of developed sodium silicate solution. Picric acid employed has been recrystallized from benzene by means of the procedure described by Thompson and Houlton (1933)[(6)]; in the preparation of chromate solution buffered by borax, the procedure of Swank and Mellon (1934)[(7)] has been followed.

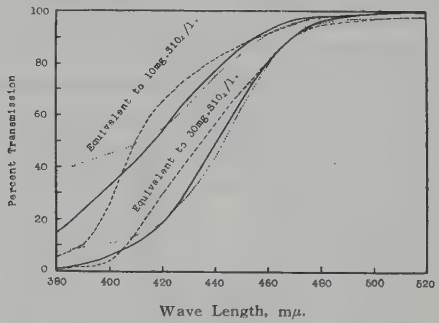


Fig. 3. Absorption cnrves for various color standards. Solid curves: Na_2SiO_3 solution. Broken curves: K_2CrO_4 solution. Dotted curves: Picric acid solution.

In view of types of the absorption curves, there seems to be differences between visually similar solutions. That the color of picric acid solution has visually somewhat greenish tint correspond to the fact that the absorption relatively decreases at the edge of visible part. From the figure it may be conluded that the coloration of chromate solution is more similar to silicomolibdate coloration than that of picric acid solution, although the type of the absorption curve for chromate solution does not always resemble to that of silicomolybdate. In any case, however, precautions should be taken against spectrophotometrical standardization of color standards, since optical densities of these yellow solutions at 380 mμ differ from each other. Picric acid should not be recommended, since the quality of batches of preparation is not always pure and since the color of solution greatly depends upon the degree of dryness of recrystallized products.

3. Salt Effect—In Fig. 4 are shown relationships between silicate concen-

trations and corresponding optical densities at 380 mμ in both distilled water and sea water (Cl=17.3$^0/_{00}$) media. The range of silicate concentration was 1–10 mg. SiO_2/l.

From the figure it is obvious that the decreases in color intensities took place at each concentration in sea water medium and that decreases in optical densities at each concentration occurred in a definite proportion. A correction factor, 1.09, was obtained on the basis of the straight lines in the figure. Of cause, the value should not be applied to visual comparison, for it was derived from the results of monochromatic measurements.

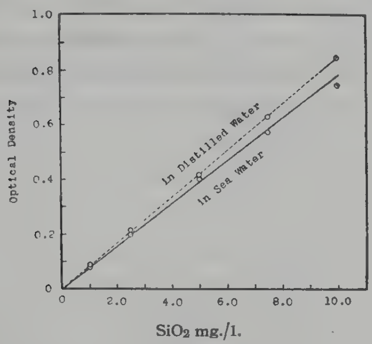


Fig. 4. Salt effect for silicate coloration.

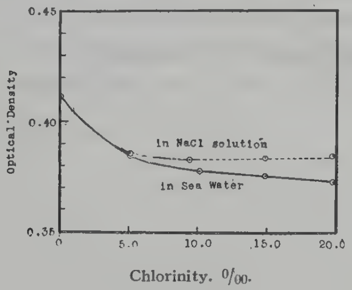


Fig. 5. Changes in silicate coloration with those of chlorinity.

In order to derive a correction factor for visual comparison from the results of photoelectric measurements, an equation has been prepared for computations on the basis of an assumption that the color intensities received by human eyes are proportionate to the integral values of optical densities for each wave lenght in visible part. The equation is

$$f=\left(\int_{380}^{540}E_\lambda\, d\lambda\right)_d \Big/ \left(\int_{380}^{540}E_\lambda\, d\lambda\right)_s,$$

where, λ designates a wave length; E_λ, optical density at a wave length of λ; suffixes d and s indicate distilled water and sea water media, respectively.

The value, 1.18, obtained through the equation is in a good agreement with the correction factor of 1.17 obtained by visual measurements. The fact may suggest that the rough assumption stated above is valid to some extent.

Changes in silicomolybdate coloration with changes of chlorinity are shown in Fig. 5. In this case, silicate solutions containing 5 mg. SiO_2/l. were used. As the media were employed sea water and sodium chloride solution.

It is evident from the figure that relatively sharp decreases in coloration occurred up to a chlorinity of 5‰ with increasing chlorinity in both media, while above 5‰ no change was recognized in NaCl solution and only small changes took place in sea water. Consequently, the correction factor either of 1.09 or 1.18 obtained above may be applicable to every chlorinity above 5‰.

4. **Preservation of Samples for Analysis**—Although it is desirable to analyse samples as soon as collections have been done, analyses cannot always be made immediately after sampling in case of field observations, so that preservation of samples is unavoidable.

In order to examine degree of changes in silicate contents during a period of preservation, water collected from a station located in the Kuroshio region has been preserved in glass bottles of various qualities and determinations of silicate contents of preserved water have been repeatedly carried out over a period of 30 days, results of which are shown in Fig. 6.

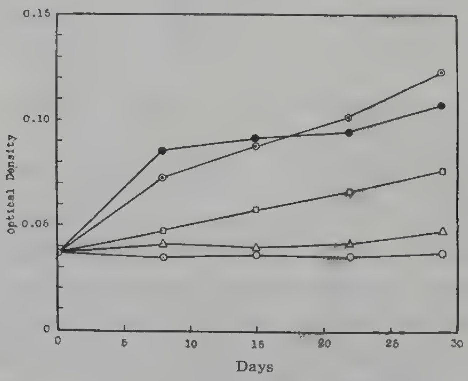


Fig. 6. Changes in silicate contents in preserved water samples.
Circles: in a bottle coated with paraffine. Triangles: in a beer bottle.
Squares, Black dots and Bouble circles: in bottles of various types usually been in use for sampling.

In consequence, it can be proved that no change was noticed in sea water samples preserved in a beer bottle and a paraffine coated bottle, while increases took place in silicate contents of samples preserved in sampling bottles generally in use.

From this it may be conluded that the dissolved or dispersed states of colorimetrically measurable silicon compounds have seldom altered so far as oceanic waters containing less suspending materials are concerned, and that

interior coating of bottles with paraffine is necessary when glass bottles are employed for the sampling of water.

Summary

The author has studied the colorimetric method for determination of silicate using Beckman's Quarz Spectrophotometer. The results obtained are summarized as follows:

1. A wave length of 380 mμ has been chosen as the most appropriate for optical measurements of silicate coloration.
2. The Beer's law is strictly followed by silicate coloration below a concentration of 10 mg. SiO_2/l.
3. In view of types of the absorption curves, potassium chromate solution is preferable to the solution of picric acid as a color standard to be used for visual color comparison.
4. A correction factor of 1.09 has been derived for salt effect on the spectrophotometric measurements at 380 mμ.
5. A correction factor, 1.18, has been computed for the visual comparison from the results of photoelectric measurements, by introducing a simple assumption. The value has been in a good agreement with the value of 1.17 obtained by visual measurements.
6. These correction factors may be applicable to every chlorinity above 5‰.
7. It may be concluded that the states of colorimetrically measurable silicon compounds have seldom altered so far as oceanic waters are concerned.
8. Interior coating of bottles with paraffine is necessary when glass bottles are employed for the preservation of silicate samples.

Acknowledgements

The author desires to express his sincere acknowledgements to Dr. Yasuo Miyake of the Meteorological Institute for kind advice. Very able assistance in various phases of this work has been given to the author by Miss F. Shiokawa, without whose persevering effort the present work could hardly be accomplished.

References

(1) H. Wattenberg (1937): "Methoden zur Bestimmung von Phosphat, Silikat, Nitrit, Nitrat und Ammoniak im Seewasser", Rapp. et Proc.-Verb., Cons. Perm. Intern. pour l'exploration de la mer, **103**. 15.

R. J. Robinson and T.G. Thompson (1948): "The determination of silicate in sea water", Jour. Mar. Res., **7**, 49.

(2) I. Iwasaki, T. Katsura and T. Tarutani (1951): "So-called silica content of natural waters", Bull. Chem. Soc. of Japan, **24**, 227.

(3) A. Saeki (1949): "Silicate in the water on its colorimetric determination" (in Japanese with English abstract), Jour. Oceanogr. Soc. of Japan, **5**, 41.

(4) D. T. Chow and R. J. Robinson (1953): "Forms of silicate available for colorimetric determination", Anal. Chem., **25**, 646.

(5) R. J. Robinson and H. J. Spoor (1936): "Photometric determination of silicate in sea water", Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., **8**, 455.

(6) T. G. Thompson and H. G. Houlton (1933): "Determination of silicon in sea water", Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., **5**, 417.

(7) H. W. Swank and M. G. Mellon (1934): "Colorimetric standards for silica", Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., **6**, 348.

増　　　　殖

MARINE PROPAGATION

ハマグリ (*Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)) の移動に関する研究–I. 粘液分泌腺の組織學的研究

浜 田 颯 子・猪 野 峻
(東海区水産研究所)

Studies on the Movement of the Japanese Hard Clam, *Meretrix meretrix lusoria* (RÖDING)——I. Histological Studies on the Mucous Gland in relation to Locomotion

Sakko HAMADA and Takashi INO

As has been previously reported by some students, *Meretrix meretrix lusoria* has the peculiar habit of moving by means of string-like mucous excreted from the posterior region of the clam. This method of locomotion was found to be common during late spring and autumn. In the course of their histological studies, the present writers discovered conspicuous mucous tissue in this posterior region, which they believe may be correlated with this peculiar method of locomotion. This mucous tissue lies between the root of the siphons and the black line extending along the posterior pallial margins on the inner wall of the mantle surrounding the siphons, as shown in Fig. 1 & 4.

For fixation of this tissue, Susa and Gilson solutions gave good results, while Bouin's solution caused great swelling followed by rupture. This mucous tissue was stained with Mucicarmine and Haematoxylin. The mucous cells were very tall, reaching a length of 0.35 mm in clams 30 mm in length (Fig. 2). Similar mucous tissue was not found in other clams such as *Venerupis semidecussata* (Fig. 3), *Dosinia japonica*, *Mactra sulcataria* and *Mactra veneriformis* which do not have this mucous-string method of locomotion.

緒　言

ハマグリが粘液を分泌しながら沖合に向つて移動することは，漁夫の間ではよく知られていることで，岸上（1931），内田（1941），吉田（1952)による報告があるが，就中内田（1941）は朝鮮慶尚南道の干潟で調査を行つた結果に基づき粘液による本種の移動の速さ，方向，水層，貝の大きさ等に就いての詳細な報告をしている。是等の著者によつて指摘されているように，移動する貝の大きさは大体殻長 30—50 mm の成育期のもので，体の後部から無色透明な紐状の粘質物を長く出して，落潮流により水底を軽く擦りながら引きずられるようにして運ばれてゆく。その時期は晩春から秋にかけての大潮時に多いといわれている。ハマグリの移動には，その粘液が重要な役割を果していることは古くから知られているところであるが，粘液分泌の機構・分泌物の量・部位等に就いては明らかにされていない。本文は本種の移動習性に関する研究の基礎として，粘液の分泌部位に就いて組織学的に追求したものである。本文に入るに先だち懇篤なる助言を賜つた埼玉大学教授加藤光次郎博士，科学博物館滝庸博士に対し茲に謹んで感謝の意を表する。

1954 年 4 月 27 日受理（印刷費負担） 東海区水産研究所業績 B 第 147 号

材 料 及 方 法

千葉県浦安地先の養貝場で毎月採集した新鮮なハマグリを用いた。殻長 30—50 mm 位の貝が主に移動するといわれているが，この範囲の大きさのもの以外に，小は殻長 15 mm 位から，大は 55 mm 位のものに就いて季節毎に切片標本をつくり検鏡した。予め生きたハマグリを硫酸マグネシウムで麻酔し 外套膜を傷つけないように開殻し，殻長 30 mm 以下のものは肉体全部を Bouin 液で固定した。この際水管を被覆している左右外套膜の周辺は膨化して組織が破壊されるので，この部分だけ特に切り取り Susa及び Gilson液で固定したが，前者による方が良結果が得られた。 Paraffin 切片は厚さ 4 μ～7 μ とした。染色は，Mucicarmin，Mallory 氏液 及び Delafield's Haematoxylin，Eosin の複染色，をあわせ用いた。対照として同一の場所に棲息する アサリ，シオフキ，バカガイ，カガミガイ を 同様な方法で切片として比較観察を行つた。

観 察 結 果

1） 粘液腺細胞の分布状態

ハマグリは元来粘液の分泌が非常に多いが，特に移動にあたつて分泌される粘液については体のどの部位が関与するのか，その分泌腺の分布状態を殻長 30 mm のものの肉体を全体に亘つて切片標本として追求した。軟体の上皮には殆んど全面に亘り多数の杯状の粘液細胞が散在していて，其の他に足部•水管•水管内の辨•外套膜縁の内側•及び中間部の縁膜突起•鰓の基部等の部分の結締組織の中には細長い単一胞状の粘液腺細胞が密に並んで上皮細胞間に垂直の方向に開口している。これ等の粘液細胞は Mucicarmin に赤く，Haematoxylin では青紫色に染まり，粘液細胞の特徴をよく表わしている。結締組織の中の粘液腺細胞に就いて述べると，殻長 30 mm の縦断切片標本では，足部の結締組織の中にある粘液腺細胞の長さは 0.28 mm 位に達し，径は 23 μ であつた。水管部位のものは足部のものよりやゝ短く，長さも 0.21 mm が最長であつた。他の部位の粘液腺細胞の大きさは上述の範囲内のものであつた。切片の厚さ染色度等によつて分布密度や大きさにも多少の差異がある。

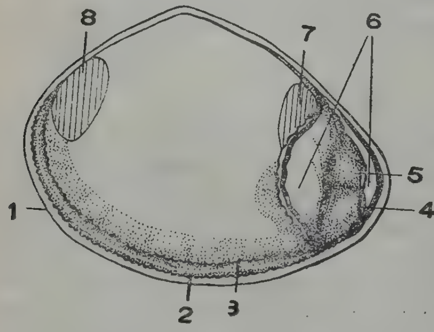


Fig. 1. Diagram showing position of mucous tissue in *Merctrix meretrix lusoria*
1: Right shell valve, 2: Right pallial margin
3; Left pallial margin, 4: Inha'ent siphon,
5: Exhalent siphon,
6: Mucous tissue on inner wall of mantle,
7, 8: Adductor muscle.

水管周辺を覆つている外套膜の部位には他の組織と異つた特殊の組織があり，Mucicarmin，及び Haematoxylin に特によく染まり，粘液性の組織像であつたので，この部位に重点を置いて観察を行つた。

2） 後部外套膜の組織

体の後部の外套膜即ち水管を被覆する部分で，Fig. 1 の如く開殻した時に肥厚したものは折り返える。このところをピンセット等で触れると粘液性の分泌物が糸状に附着して来る。移動時期には特に分泌量が多く，粘性も高い。Bouin，Gilson 液で固定する際膨化が著しいので 主として Susa 液を用いた。これを観察した結果 Fig. 4 の如く水管に面した外套膜内壁には水管の基部から，外套膜後縁の縁膜突起の黒い色素帯のある部分に亘つて一面に粘液性の組織がある。この部の外套膜が殻と接している上皮は単層の円柱上皮で，その

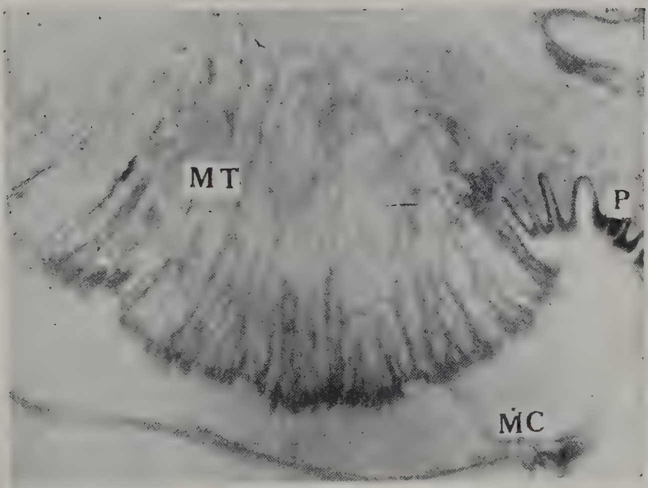


Fig. 2. Transverse section of mucous tissue in the inner wall of posterior mantle of *Meretrix meretrix lusoria*. (Stained by Haematoxylin and Eosine) × 120 MT : Mucous tissue, Mc : Mucous, P : Pigmented epithelium.

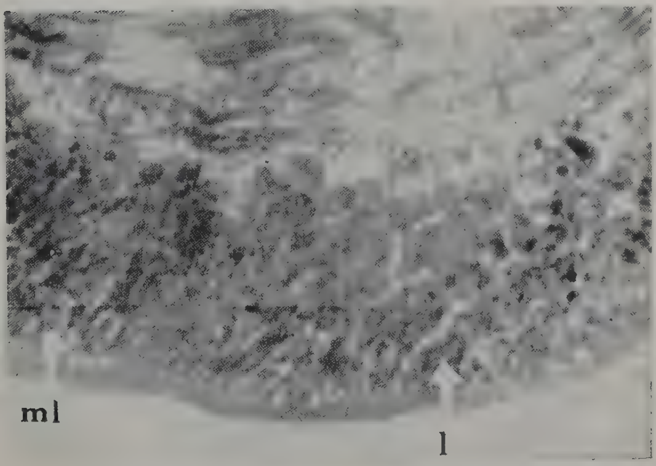


Fig. 3. Transverse section of inner wall of posterior mantle of *Venerupis semidecussata*. (Stained by Mallory) × 130, ml : Cells having mucous and large secretory granules, l : Cells having large seretory granules.

下部に極く薄い筋繊維が縦走している。Mallory 氏液で染色すると，その粘液組織全体は明るい水色に染まり，小量の微細な筋繊維が見られる。赤く染まつた小さな核をもつ紡錘状の細胞が細胞網を構成し，その間に粘液性物質が充満している。体腔面の上皮は単層の立方上皮で，基底膜は甚だ薄く，游走細胞は存在しない。Haematoxylin 及び Mucicarmin で染色すると粘液細胞の上皮に開口する部分が明瞭に認められる。この時の粘液細胞の長さは殻長 30 mm の切片標本では約 0.35 mm に達し，足部結締組織の中に分布する粘液細胞よりも長くて且つ大きい。外套の縁膜突起との境界と水管の基部の周辺には特に密に並んでいる。(Fig. 2) Bouin 液で固定したものではこの組織全体は崩壊して雲状に Haematoxylin, Mucicarmin に濃染する。これに対し粘液による移動の見られないアサリに於いては足部・水管・鰓の基部等の結締組織中の粘液細胞の分布はハマグリと同様に密に分布しているが，水管周辺のハマグリと同一部分にあたる後部外套膜には好酸性の顆粒を含んだ大細胞が充満して，酸性フクシンに美麗な赤色に染り，又粘液と好酸性顆粒とを含む混合顆粒腺細胞が部分的に散在しているに過ぎず (Fig. 3)，ハマグリの組織とは明らかに異っている。又シオフキ・バカガイ・カガミガイに於いてもハマグリのこの様な特殊な組織は全然見られなかつた。ハマグリに於いては殻長 50 mm 迄の範囲内では，この粘液組織が発達している。腺細胞の分布状態については組織学的には季節的消長を見出し得なかつた。以上の事実を綜合するとハマグリが移動する際に分泌する多量の粘液が，主として先に述べた水管周縁の外套膜内面を構成する粘液組織に由来するものと信ぜられるが，その分泌機能が成長又は季節によって相違し，潮汐の干満によつても左右される点については今後の生態的研究にまたねばならぬ。

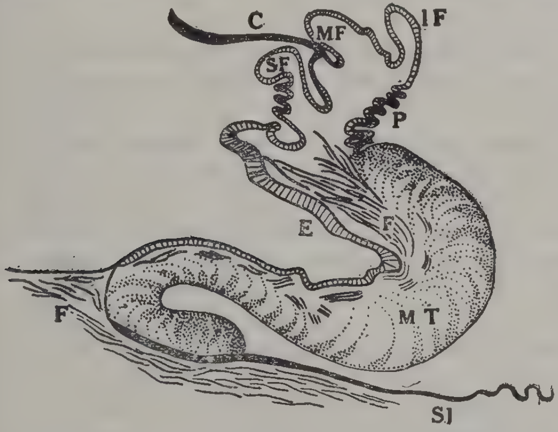


Fig. 4. Transverse section of the posterior mantle of *Meretrix meretrix lusoria* showing mucous tissue.
C : Conchyolin, E : Epithelium,
SF : Shell fold, MF : Middle fold,
IF : Inner fold, P : Pigment epithelium,
F : Fiber MT : Mucous tissue,
SI : Siphon.

文　　献

1) K. Kishinouye : On a peculiar mode of locomotion of a clam, *Meretrix meretrix L.* Zool. Anz. Bd, XII. No. 10, S. 445～446. (1913).

2) 岸上鎌吉：蛤の奇なる習性. 動雑. 25 (297) 377～378. (1913).

3) 內田恵太郎：ハマグリの移動習性に就いて. 水産学会報. 8 (3, 4) : 218～230. (1941).

4) 吉田　裕：ハマグリの養殖. 水産界. No. 813 : 46～65 (1952).

5) 小島吉雄：アコヤガイ外套膜の組織学的研究. 生物. 4 (5～6) ; 201～205. (1949).

6) Y. Ojima : Histological studies on the mantle of pearl oyster (*Pinctada martensii* Dunker). Cytologia, 17 (2) : 134～143. (1952).

ヒトデ稚仔の適温・適比重試験

相良順一郎・猪野　峻
（東海区水産研究所）

The Optimum Temperature and Specific Gravity for Bipinnaria and Young of Japanese Starfish, *Asterias amurensis* Lütken

Jun, ichiro SAGARA and Takashi INO

Starfish (*Asterias amurensis*) made a sudden attack in large number on the coast of Tokyo Bay from October 1953 to March 1954 and devoured large quantities of clams (*Meretrix*, *Venerupis*, *Mactra* etc.)。

The experiment was desiged to find out the optimum temperature for the larvae (Bipinnaria) and the young of the starfish and the optimum specific gravity for the larvae. The larvae used in the experiment were obtained by artificial fertilization and reared in Tauchi's thermostat for 22 days from March to April 1954. Similary, the young of the starfishes (arm length 4-9mm), collected from sea bottom by dredge were reared in the same thermostat for 30 days form April to May. The larvae used in the exeriment dealing with the optimum specific gravity were reared in Petri dishes for 22 days from March to April. The results obtained were as follows :

1) The optimum temperature for Bipinnaria and young starfish is 5-20°C and 5-26°C respectivly (see Table 1 & 2).

2) The optimum specific gravity for the Bipinnaria is 1.011-1.026 (δ_{15}) (see Table 3 & 4).

During the seaon of high summer temperature, both young and adult starfish died in great numbers. This fact seems to prove that the range of temperature tolerance for both adult and young is similar. The upper limit of tolerance in the young starfish was found experimentally to be 26°C. It seems probable that the appearance of starfish in vast number in Tokyo Bay during the period from October 1953 to March 1954, was related to the unusually low temperatures which prevailed during the summer of 1953, which in turn, permitted the survival of the unusually large number of individuals.

緒　　言

ヒトデ（*Asterias*）の生物学的研究は，アメリカに於ては 1888 年以来の北部大西洋沿岸の養蛎場に於ける大害が動機となつて，分類，発生，生態等諸般に亘り多くの研究がなされているが，我国に於ては分類学的研究に限られ，生態に関する業績は寥々たるものである。1953 年 10 月頃より東京湾沿岸の養貝場には，ヒトデ（*Asterias amurensis*）が大挙来襲し，爾後アサリ，ハマグリ等の貝類を喰害して漁業者に大被害を与えたが，その発生原因を究明し今後の被害対策を講ずる必要から，鋭意ヒトデの生態に関する研究を行つている。その産卵期については，1954 年 4 月の日本水産学会大会に於て既に報告したが（未発表）本文ではヒトデ稚仔の適温・適比重について実験し，得られた結果を報告して参考に供する次第である。

実　　験

1954 年 12 月 4 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 185 号（印刷費負担）

1. 幼生（Bipinnaria）の適温範囲

幼生の適温範囲を知るために田内式恒温槽を使用して飼育し，その斃死状況を実験した。

a. 供試幼生並に方法

供試幼生は 1954 年 3 月 25 日羽田沖から採集したヒトデの雌雄を用いて同日 17 時 30 分人工受精を行い，発生して Bipinnaria になつたものを供試材料とした。この幼生を径 63 mm，高さ 150 mm の円筒形ガラス容器計 11 個に夫々清浄海水 150 cc（δ_{15}. 1.022）を盛つた飼育海水中に，各々 100 個躰づつ収容し，予め温度を調節した田内式恒温槽 11 区劃に設置した。その内最低温度の区劃は氷による冷却槽をそのまゝ用いた。実験期間は 3 月 29 日 19 時 20 分より 4 月 21 日 9 時 50 分までの間で，22 日間余（542）時間であつた。猶，培養した *Monas sp.* の濃厚液を 3 cc づつ餌料として投入した。実験期間中，換水は行わなかつた。

b. 結　果

実験の結果を第 1 表に示した。

Table 1. Optimum temperature range for Bipinnaria.

Aquarium No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Date / Mean Temp.	°C 31.3	°C 27.9	°C 24.9	°C 22.0	°C 19.5	°C 17.0	°C 14.3	°C 11.9	°C 9.0	°C 5.6	°C 0.6
March. 29.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
30.	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
April. 5.	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7.	−	−	+*	+*	+	+	+	+	+	+	−
8.	−	−	−	−	+	+	+	+	+	+	−
19.	−	−	−	−	+	+	+	+*	+	+	−
21.	−	−	−	−	−	−	−	+*	+	+	−

+…Alive.　　−…Dead.

* Many individuals died and serviving individuals became smaller than the original body length.

Note : The larvae in 14.3—19.5°C (Aquarium No. 5—7) died after 21 days. But the other larvae in 14.0—15.7°C lived for 40 days. Therefor, it is belived that the larvae died for some cause other than temperature. Consequently, the optimum temperature for larvae (Bipinnaria) is 5—20°C.

即ち，高温の No. 1 中の区劃の幼生は最初の調査（15 時間後）で既に分解しており，幼生は見られなかつた（平均水温 31.3°C.）。No. 2 の区劃のものは 6 日余にして斃死し（平均水温 27.9°C.），No. 3 のものは 8 日余で殆んど斃死し，生き残つたものは体が小さくなり，9 日余で全部斃死している（平均水温 24.9°C.）。No. 4 のものは No. 3 と全く同様で，9 日余で同じく全滅した（平均水温 22.0°C.）。No. 1 から No. 4 までの間，即 22.0°C 以上の水温であると，幼生は容器の底に沈み，游泳しているものは全く見られない。これに対して No. 5～No. 10 の区劃の幼生は約 21 日間，異常なく容器の中を自由に游泳していた（平均水温 19.5～5.6°C.）。その後 2 日目に，急に No. 5～No. 7 の区劃の幼生全部と No. 8 の区劃の幼生の一部が斃死し，生き残つた個体の体が小さくなつたので，斃死率，成長等を知るために直ちに実験を終了した。

No. 8 区劃の幼生の中，生存していたものは 40 個躰で，その体長は 160～190μ の範囲で，体は実験を始めた当時より遙かに小さくなつていた（平均水温 11.9°C.）。No. 9 区劃の生存個躰数は 96 ケで，体長範囲は 250～470 μ であり，No. 10 区劃の生存個躰数は 77 ケで，体長範囲は 270～470 μ であつた。始めに容器の中に入れた幼生の数は 100 ケであるので，斃死率は夫々 60，4，23 %となる。

No. 11 区劃の冷却槽に入れた幼生は，No. 1～No. 4 区劃に入れたものと全く同様に直に器底に沈み，8 日間生存していたが全滅した（平均水温 0.6°C.）。

以上の結果から，No. 5～No. 10 区劃に入れた幼生は，約 21 日間は異常が認められず自由に游泳していたので，又供試した以外の残りの幼生が水温 14.0～15.7°C に於て 40 日間生存していたことから，No. 5～No. 7 区劃の幼生は 21 日間後に於て斃死はしたが（平均水温 19.5～14.3°C.），それは水温以外の何等かの原因で斃死したのではないかと考えられ，從つて幼生の適温範囲は 5～20°C と見做してよいと思われる。

猶，*Monas sp.* による餌料効果については，今回の実験の範囲内では明確でなかつた。

2. 稚ヒトデの適温範囲

幼生と同様に田内式恒温槽を使用して飼育し，その斃死状況を実験した。

a. 供試稚ヒトデ並に方法

供試稚ヒトデは 4 月 13 日千葉県浦安地先の水深 2 ～ 4 尋の沖で，コマセ網により採集した腕長 4～9 mm のものを用いた。方法は幼生の適温実験と殆ど同様で，この稚ヒトデを底径 65 mm，高さ 125 mm，口径 57 mm の広口瓶計 11 個に夫々清浄海水 100 cc（δ_{15}. 1.022）と，餌料として *Skeletonema* 培養海水 100cc 計 200cc を盛り，その中に各々 2 個躰づつ収容し，田内式恒温槽に設置した。実験期間は 4 月 15 日 17 時 30 分より 5 月 16 日 14 時までの間で，1 ケ月（740 時間）である。実験期間中，換水は行わなかつた。

b. 結　果

実験の結果を第 2 表に示した。

Table 2. Optimum temperature range for young starfish

Dete \ Aquarium No. / Mean Temp.	1 °C 32.0	2 °C 29.0	3 °C 26.2	4 °C 23.5	5 °C 21.0	6 °C 18.5	7 °C 16.0	8 °C 13.4	9 °C 10.5	10 °C 7.2	11 °C 1.1
April. 15.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16.	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19.	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21.	−	−	+*	+	+	+	+	+	+	+	+
May. 10.	−	−	+	+	+	+	+*	+	+	+	−
16.	−	−	+	+	+	+	+	+	+	+	−

+…Alive　　−…Dead
* One individual died.

即ち，高温の No. 1 区劃の稚ヒトデは最初の調査（17 時間後）で既に斃死して居り（平均水温 32.0°C），No. 2 区劃のものは約 4 日後に斃死し（平均水温 29.0°C.），No. 1，2 区劃ともに，体は殆ど分解して炭酸石灰の結晶が白く残つている程度であつた。No. 3 区劃のものは，1 個体は 5 日余にして死んだが，他の 1 個躰は健全で実験期間中生存していた（平均水温 26.2°C.）。No. 4～No. 10 区劃の内，No. 7 区劃（平均水温 16.0°C.）の 1 個躰が斃死したゞけで．他は健全で実験終了まで生存していた（平均水温 23.5～7.2°C.）。No. 11 区劃のものは器底に沈んだまゝ上層に匍い上ることなく，20日間余生存した後に斃死した。

以上の結果から，No. 3 区劃のものは 1 個躰が斃死しているが，他の 1 個躰は健全であるので，又実際に稚ヒトデは夏の高水温に耐えていることから，適温の上限は 26°C. と考えてよいと思われる。実験による下限は 7.2°C であるが，幼生の下限は 5°C であり，稚ヒトデは幼生よりも温度に対する抵抗性が強いので，一応下限を 5°C. として，稚ヒトデの適温範囲は 5～26°C. であると考えて良かろう。

猶，*Skeletonema* の稚ヒトデに対する餌料効果は始めから疑わしいのであるが，暗中模索的に試みた。その結果，必ずしも体長の減少したものゝみを認めず，飼育期間中に多少共成長を認めた個躰のあつたことは，多少の餌料価値を認めても良いことを裏書するのではあるまいか？

3. 幼生の適比重範囲

幼生の適比重を知るために，各種比重の海水を作つて幼生を飼育し，その斃死状況を実験した。

a. 供試幼生並に方法

供試幼生は適温実験に用いた幼生と全く同一である。この幼生を，径 90 mm，高さ 20 mm 蓋付きシャーレに，各種比重の飼育海水 20 cc. を盛つたその中に収容した。上記海水の調整法は，夫々一度濾過し煮沸した天然海水（Cl. 16.44‰.）並に同じ天然海水に岩塩を加えた海水（Cl. 38.72‰.）を，$n/_{10}$ $NaHCO_3$ を加えて pH 7.3 に緩衝した蒸溜水で稀釈し，海水 18cc. ＋蒸溜水 2cc. を 90 %海水とし，以下同様にして 10 %迄の海水を作つた。幼生は 3 月 29 日 18 時 Cl. 16.44 ‰ の海水より各々 50 個づゝ，夫々の比重の海水に移して実験を始め，4 月 21 日 12 時終了した。実験期間は 22 日余（545 時間）で，室温は 14.0～20.5°C. であつた。実験期間中，換水は行わなかつた。

b. 結 果

実験の結果を第 3，4 表に示した。

Table 3. Range of optimum specific gravity for Bipinnaria (Original S.W. Cl. 16.44‰)

Date \ Conc. of sample S.W*	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%	30%	20%	10%
Specific gravity	1.022	1.020	1.018	1.015	1.013	1.011	1.009	1.007	1.004	1.002
March. 29.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(2 hrs. after) 29.	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
April. 1.	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
21.	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−

+…Alive　　−…Dead

* Diluted in volume With buffered distilled water

Room temperature 14.0—20.5°C.

Table4. Range of optimum specific gracity for Bipinnaria
(Original S.W. Cl. 38.72 ‰ concentrated with rock salt)

Date \ Conc. of sample S.W*	100%	90%	80%	70%	60%	50%	40%	30%	20%	10%
Specific gravity	1.045	1.040	1.036	1.031	1.026	1.022	1.017	1.012	1.008	1.003
March. 29.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
(2 hrs. after) 29.	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−
30.	−	−	−	+	+	+	+	+	−	−
April. 3.	−	−	−	+**	+	+	+	+	−	−
21.	−	−	−	+**	+	+	+	+	−	−

+…Alive　　−…Dead

* Diluted in volume with buffered distilled water.

** Many individuals died and serviving individuals became smaller than the original body length.
Room temperature 14.0—20.5°C.

即ち，夫々の比重の海水に移してから 2 時間後に於て，第 3 表の Cl. 16.44 ‰. の稀釈海水中では，比重（δ_{15}）1.009 以下の海水に移された幼生全部が体組織に異状を来し斃死した。比重 1.011 以上のものには異状が認められず游泳していた。

第 4 表の Cl. 16.44 ‰. の海水に岩塩を加えて Cl. 38.72 ‰. の海水を稀釈したものでは，同じく 2 時間後の調査で，比重 1.036 以上と 1.008 以下の海水に移された幼生全部が斃死し，1.031 のものは幼生は運動が極めて不活潑であつた。1.026～1.012 の間の比重では，幼生は異状が認められず游泳していた。

第 3 表の比重 1.011 の海水中の幼生は，約 3 日後に斃死するものが少しあらわれたが、その後は変りなく，実験終了までの 22 日間余生存していた。

第 4 表の比重 1.031 海水中の幼生は，24 時間後斃死するものがあらわれ，4 日余後の観察では，生き残

つている幼生は体が小さくなり，普通の大いさ，形のものは認められず，実験終了日に於ても同様であつた。

即ち，第3表に於ては比重 1.011～1.026 の範囲の海水中の幼生が，第4表に於ては比重 1.022～1.026 の範囲の幼生が異状が認められなかつた。従つて幼生の適比重は 1.011～1.026 の範囲と考えられる。

論　　議

東京湾に於けるヒトデについては，牧（1915），平坂（1917），長峰（1930）が夫々の報告の中で一部ふれているが，牧（1915）は，ヒトデは東京湾沿岸に産し，概して浦安沿岸より千葉県下の沿岸に多く発生し，その害も甚だしく，ヒトデの群が来襲して養殖場の貝類を全滅させることが屢あると述べている。従つて以前からヒトデが屢貝類に大被害を与えていたことは確かな事であるが，又今までの種類が *A. amurensis* であるかないか分らないが，今回の様な大規模な来襲は，古老の言によつても極めて稀れの事であるらしい。大量出現して猖獗を極めたヒトデも，1954 年8月に入つてから沿岸近くで大量に斃死し，アカガイの桁網業者が腐敗したヒトデが網に入り悪臭に悩まされたということを聞いたが，著者達も漁場に於てかゝる個体を多数採集し，その事実を確認した。

今回の適温実験に供試したヒトデは Bipinnaria 或は稚ヒトデであるが，その結果適温範囲は夫々 5～20°C，5～26°C．であることが分つた。今回親ヒトデ，稚ヒトデが共に夏期の高水温期に斃死したことから判断すると，親ヒトデも大体同じ様な傾向をもつものと推察される。又比較的高水温に弱いことから考察すると大量出現の一因としては，昨年夏の異常低水温により夏期の斃死が少く，残存率を多くしていたであろうということも挙げられよう。

本種は北方型の *Asterias amurensis amurensis* か，南方型の *Asterias amurensis versicolar* かは，被害が惹起された当初から議論された所で，未だ多少の疑問が残されているが，この点は単に形態学的観察からのみならず生態学的研究をも基礎として解決されねばならぬ所である。この意味でこの結果は，本種を *A. amurensis amurensis* らしいという結論に導く資料になるかもしれない。

筆を擱くに当り，本研究上重要な示唆を賜つた富山大学教授林良二博士並びに海水の塩分検定について御協力を頂いた本所深井麟之助技官に対し深甚なる謝意を表する。

文　　献

1) J. L. Baughman : "Technological Studies of the Starfish", Fish. and Wildlife Service. U.S. Dep. Interior. Fishery Leaflet 391, pp. 1—47. (1951).

2) 平坂恭介 : "浅海利用調査報告第一報東京湾"，農商務省水産局，pp. 1～99. (1917).

3) 牧　義男 : "東京湾に於けるあさりばかがひの養殖"，水産研究誌 Vol. 10, No. 1, pp. 6～34. (1915).

4) A.D. Mead : "The Natural History of the Star-Fish", Bull. U.S. Fish. Comm. Vol. 19, pp. 203 –224. (1901).

5) 長峰千山 : "害敵による養殖介類の被害とその食害試験"，千葉水試報告，昭和5年度，pp. 37～41 (1930).

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries Vol. 20, No. 6, 1954

海に入れたノリの"Conchocelis-phase"からの胞子の放出とヒビ立て時期

竹内卓三・松原孝之・下中元信・須藤俊造
(広島県水産試験場) (東海区水産研究所)

On the Shedding of Spores from Cultured "Conchocelis-Phase" of *Porphyra tenera* set in the Sea

Takumi TAKEUCHI, Takayuki MATSUBARA,
Motonobu SHITANAKA and Shunzo SUTO

In order to get some knowledge on the shedding of spores from "Conchocelis-phase" of *Porphyra tenera*, oyster shells in which the Conchocelis had been cultured were set in the sea in autumn.

Everyday a part of them was taken up, kept in glass tubes till the next day in the laboratory and number of spores shed were counted under microscope.

Shedding occurs everyday from the late September to the early December.
The number of spores shed in a day is considerablly large (200—1,000 per 1 cm^2 of shell) during two to three days at every spring tide, while in other days it remains very small (less than 10 per 1 cm^2 of shell).

今までヒビ立て時期の決定は，永年にわたつて立込み前後の環境条件と発芽数（又は収量）との関係を求め，之からその年の条件に応じて適期を予察するという方法で行われて来た。これで大体誤りが少いとはいえ，発芽を見るまでは心配でもあり，又時に失敗もある。ところでアサクサノリでも "Conchocelis-phase"[2] が確認され[1,3]，秋に最初にヒビ・アミにつく胞子の少くも相当部分が之に由来すると推定される。とすると，ノリ場の胞子のもとになる Conchocelis の分布と，之からの胞子放出状況がしらべられゝば，毎日の胞子付きの多少が具体的につかめ，立て込みが安心して行えるであろうが，今の所，この調査は容易でない。しかし培養した Conchocelis を海に入れたときに放出する胞子の多少とその時の実際の胞子付きとの間に実用上差支ない程度の関連が見出されるならば，割合簡単に大体の予測ができるのではないだろうか。こういう考えで行った実験の結果についてこゝに報告する。

材　料

1952 年 11 月～53 年 3 月に東京湾のアサクサノリの果胞子をカキ殻につけて室内で培養した。53 年 9 月に胞子嚢が多数（1 mm^2 に数個）できた貝殻を 1 cm^2 位に割つて実験に使った。

実 験 と 結 果

9 月 20 日に材料多数を 9 組に分けてそれぞれ網に包み千葉県青堀町地先で干潮線下 30 cm に入れた。翌日から毎日夕方3組ずつ取上げ，海水を入れた瓶に1組ずつ入れて室内におき，時々瓶を振つてすぐに海

1954 年 8 月 9 日受理　東海区水産研究所業績 B第 167 号
広島県水産試験場業績；

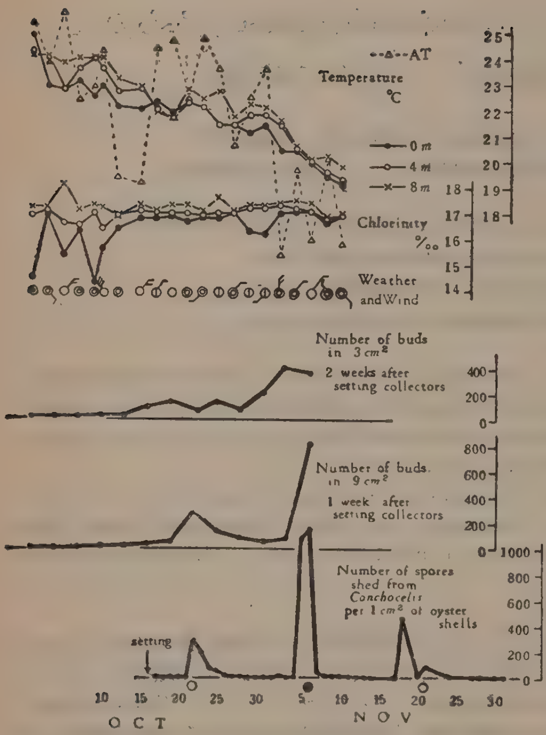


Fig. 1. Daily change in shedding amount of spores from cultured Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* set in the sea and change of the environmental factors

水をシャーレに移して中の胞子数をしらべ，瓶には新らしい海水を入れて，時間がたつてから又同様にする。翌日夕方，又網に包んで海にもどす。つまり2日海に入れておき，3日目は1日室内で放出胞子数をしらべたわけで，之を10月13日まで行つた。

この結果，相当数の胞子の放出が見られること，放出は夜間と午後にはほとんど行われず，午前中特に7～10時に多いこと（別報）がわかつたが，この毎日の放出の多少と胞子付きとの関係ははつきりしなかつた。

次いで10月13日に材料の大部分を海から取り上げて広島水試に移し，5組（それぞれ約 28 cm²）に分けて金網に包み，草津地先のカキ棚から干潮線下1mに垂下し，毎日夕方1組を取り上げて海水を入れた瓶に入れ，翌日10～12時に瓶を振つてから海水をシャーレに移して放出胞子数をしらべ，夕方海にもどした。第1図にカキ殻 1 cm² からの胞子数に換算した実験結果，及び3日毎に立込んだ割竹浮ヒビの上のノリ発芽数，温度，塩分，天候の観測値を示した。発芽数は割竹側面上方で長さ 5 cm，巾 3 mm を7日後に6ケ所，14日後に2ケ所についてしらべた。

考　　察

黒木[4]は室内の観察で胞子放出には多い時期と少い時期があり，之が交互にくりかえされるのを見たが，その週期ははつきりしていない。本実験では大潮毎に多くの放出が見られ，放出の週期は大体一潮であるのを認めた。之は放出の週期性が潮汐又は之に伴う条件で control されるのを示している。なおこの週期は一潮より僅か短かく，従つて後になるほど放出の山が，月令で言つて早くなるように見える。このことはノリ場で胞子付きの適期が一潮より僅かに短い週期であらわれるのとよく対応している。本年は水温，塩分，天候等にはつきりした特徴がないことが，この潮による週期性をはつきりさせたとも思われ，之等に著しい変動のある年には週期性の乱れが考えられよう。

放出胞子数とその日に立込んだヒビの上の発芽数（7日後）との間には明らかに対応した関係が認められる。14日後のものとの関係は大分不明瞭になつている。之は14日後の発芽数調査が小面積（1.5 cm² 2ケ所）で行われたため測定に誤差が大きかつたことも考えられるが，又胞子が立込んで後に次々に着いて之が

加算さることもあろう。

以上から，培養した Conchocelis を海に入れてその胞子放出数をしらべ，その数から胞子付けの時期を判定するという方法が有効であることが或程度期待できるように考える。しかし実際上胞子付け時期の判定にこの方法を利用するためには次の諸点が明らかにされる必要があろう。

1) 培養した Conchocelis をどの位の期間海に入れゝばもとから海にあるものと近似した放出を見るようになるのか。本実験では千葉での 20 日間は放出が胞子付きと対応せず，広島に移して後，つまり約1ケ月後に海のものと似た放出を示し始めているように見える。

2) 海に入れた場所・深さ・Conchocelis 発生貝殻の数をどう選んだらよいのか。海中の自然放出にも場所によつてずれがあるかもしれない。実験では放出の山が海での胞子付きから予想されるよりはるかに顕著に出ているが，之は1ケ所のみに入れたためかもしれない。この山がもつと緩かに出ないと，適期を予察する上に余裕がないことになる。

3) 夕方取り上げて翌朝室内で放出をしらべるという方法でよいのかどうか。上にのべた放出の山が顕著すぎるのは，この方法に関係があるかもしれない。海の中に吊した瓶に入れて放出をしらべることも考えられよう。

4) ノリの品種によつても差があるかもしれない。

こうした点については更にしらべてゆく予定である。

要　　約

カキ殻上に培養したアサクサノリの Conchocelis を秋に海に入れ，毎日海から取り上げて翌日室内で放出胞子数をしらべた。約1ケ月後から胞子の放出に大体一潮の週期が認められ，放出数とヒビの上のノリ発芽数との間に大体対応する関係が認められた。

文　　献

1) 新崎盛敏：科学，**24** (5)，218～223 (1954).

2) K. M. Drew：Nature，**164** (4174)，748～749 (1949).

3) 黒木宗尙：東北水研研報，**2**，67～103 (1953).

4) 〃 ： 〃 **2**，104～108 (1953).

アサクサノリの生活史に就いて，特に秋に立込んだヒビに最初に着く胞子の性質—III.

須　藤　俊　造
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻 第六号 別刷
昭和二十九年十月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 6, October. 1954

アサクサノリの生活史に就いて，特に秋に立込んだヒビに最初に着く胞子の性質—Ⅲ.

須藤俊造
（東海区水産研究所）

On the Life-history of *Porphyra tenera*—Ⅲ.

Shunzo SUTO

"Autumn spores" of *Porphyra tenera* fix themselves to collectors early in autumn and give rise to winter plants. In previous papers, it was shown that the autumn spores in Tokyo and Ise Bay measure about 11 μ in diameter and are not to be considered as monospores (14—15 μ in diameter) from "summer plantlets".

In this paper the auther reported some results of the measurement of the spores from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shells and his view upon the life-history of *Porphyra*. The spores measure about 11 μ in diameter; they develop to *Porphyra* thalli. Autumn spores in Tokyo and Ise Bay at least a greater part of them, are concluded with reasons to be the spores from Conchocelis-phase. In the previous papers, which appeared at the time when the spores Conchocelis phase had not been discoverd, author suggested that carpospores formed in previous winter might pass the summer in a resting state and directly become autumn spores in autumn. This suggestion should be now withdrawn.

前報[5)6)]で著者等は東京湾及び伊勢湾のアサクサノリについて

1） 秋のヒビ立て時に海水から検出したノリの胞子と認められるものは平均直径が 11 μ で，単胞子（15 μ）とは違うこと。

2） ヒビ立て後間もなくはえた幼芽は，単胞子からはえた幼芽とくらべて細く，より小さい胞子から生長したものであること。

3） 以上から，秋に最初にヒビについて冬のノリの起源となる胞子は，夏ノリから出る単胞子ではなく，より小さい胞子であり，ノリのもう一つの胞子である冬の果胞子と大きさが一致することを報じた。ところで 1949 年 Drew により，*Porphyra umbilicalis* の果胞子が貝殻中に穿孔して "Conchocelis-phase" になることが報告され，これに生じた胞子が秋のノリの起源となることが推定された。アサクサノリについても黒木[3)]，新崎[1)] 等によつて "Conchocelis-phase" が確認され，更に秋に之に生じた胞子がノリの葉体に発生することがたしかめられた。著者も全く同様の結果を得たが，ここに之に生ずる胞子の大きさについて報告し，ノリの生活史についての考えをのべたい。

1952 年及び 53 年の冬に，東京湾産アサクサノリを品種[4)] 別にカキ殻に培養し，秋に室内で之から放出される胞子が静止して円くなつた時の直径を測定した。1953 年には，このカキ殻を海に入れておき，取りあげて翌朝放出される胞子についてもしらべた。両者の結果は違いが見られないので，まとめて表に示し，之

1954 年 9 月 5 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 168 号

に東京湾のノリ場の海水から検出した胞子の大きさ[6]を附記する。

Table 1. Diameter of spores shed from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shell

Form* \ Diameter (μ)	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	Mean
No. 2 (Akame)	0	1	17	48	27	24	3	0	120	10.6 μ
No. 4 (Asakusanori)	0	0	8	33	41	17	1	0	100	10.7 μ
No. 6 (Kosujinori)	0	1	3	31	27	15	2	0	80	10.7 μ
Total	0	2	28	112	95	56	6	0	300	10.7 μ
Spores found from sea water of Nori (Porphyra) field**	0	0	22	29	41	18	7	0	117	10.8 μ

* See Suto (1950)

** See Suto and Fujiyama (1952)

表に見る様に Form 2 (アカメ, 晩生種アサクサノリ), Form 4 (アサクサノリ), Form 6 (コスジノリ) は共に Conchocelis-phase から出る胞子の大きさは差がなく，之等とノリ場の海水から検出された胞子ともよく一致している。色素体の形状も発生の様式も全く同様である。Conchocelis-phase からの胞子について，黒木[3]は塩釜湾で 9～14 μ，山崎 (1953 年 10 月，口頭発表) は東京湾で 8.7～13.7 μ，平均 10.7 μ としており，著者の結果とよく一致している。

胞子の大きさ・形状・及び発生からみて，東京湾・伊勢湾等のアサクサノリで，秋に最初にヒビ等に着いて冬のノリのもとになる胞子は Conchocelis-phase からの胞子が少くも相当部分を占めると考える。前報で Conchocelis がまだ知られていない時には，冬の果胞子が大きさで一致する唯一つの胞子であつたので，之が冬からそのまゝ休眠して秋に出現するのではないかと推論したが，果胞子は大部分が発芽して Conchocelis に生長すること，休眠するものもあるかもしれないが積極的な資料が得られないことなどから，上の推論は取り消したい。

ところで貝殻の中に入つた Conchocelis からの胞子のみが秋のノリのもとになるのだろうか。この点は Conchocelis の分布・量がもつと明らかにならないとまだいゝ切れない。黒木・新崎は共にガラス上で発生した果胞子からの糸状体にも胞子嚢が出来，胞子が出るのを見ており，著者も同様なことを観察している。海でも貝殻に入らないで杭等についた果胞子からの糸状体に胞子が生じて秋のノリのもとになることはないだろうか，木浦等のノリ場では底が泥で貝殻は見当らないとのことである。

前報から著者等は東京湾・伊勢湾等で「夏ノリ」からの単胞子が秋のノリの起源になつていないと述べて来たが，殖田[7]が報じた様に夏季に小型のノリがよく見られ，単胞子で繁殖していることは著者も確認している。之等は初期発生様式から見て，コスジノリは先ず見られず，アサクサノリの Form 1～4, 即ち「マルバ型」が多い。従つて特にマルバ型のノリでは東京湾でも夏ノリが秋のノリのもとになる可能性は認められるが，ただ平常の夏の条件ではこのことは行われない。新崎[1]は夏季水温が 25° 以下であると夏ノリが生残ると考えているが，之は種類によつても違うかもしれない。

殖田[7]は冬の果胞子が発芽したものが夏ノリのもとになると考えた。しかしこの点にも問題がある。前報の様に，夏ノリが見られない所にヒビを立てゝ始めにつくのはやはり小さい胞子で，之は Conchocelis からの胞子である可能性がある。又冬の果胞子を生じたノリから出る果胞子を含んだ細胞群を培養すると Conchocelis に発生するものに混つて通常のノリの発芽をするものが多少見られ，時により全部がこの発芽をする。その割合は時期により，又ノリの種類により違う。黒木[3]は果胞子になるべき雌性細胞が変つて生じた，

秋の単胞子と同じ中性胞子の発芽と考えている。しかし明らかに果胞子が生じているノリからの細胞群を培養して全部が通常の発芽をする場合もあり，やはり果胞子が通常発生をする場合もあると思われる。更に和田[8]は栄養細胞も糸状体に発生をすることを報じている。秋の幼芽からの単胞子は Conchocelis にならないが、果胞子のほか，栄養細胞等も Cenchocelis になりうるのかもしれない。

こうした問題が残されているが，東京湾では Conchocelis からの胞子が秋最初にヒビ等につく胞子の少くも相当部分を占めることは間違いないと思われる。又 Conchocelis は培養が容易なので，秋の胞子の出現・着生の研究に，更に人工的な胞子付け，及び之を利用する遺伝・品種・育種等の研究にこれを有利に利用し得ることはたしかである。

摘要

カキ殻に培養したアサクサノリ（及びコスジノリ）の Conchocelis-phase から出る胞子の大きさは，中生・晩生のアサクサノリ及びコスジノリの何れも平均直径約 11 μ で，著者等が秋のヒビ立て時にノリ場の海水から検出した胞子とも一致しており，形状・発生様式も同様である。このことから秋最初につく胞子は少くも相当部分が Conchocelis から出る胞子と考える。前報で冬のノリに生ずる果胞子が同じく 11 μ であることから，之が休眠して秋に出現するのではないかとしたが，この考えは訂正したい。

なお，ノリは夏ノリとして越夏する可能性もあることや，Conchocelis になる胞子，或は夏ノリになる胞子などについても，いろいろ疑問の点が残されていることを述べた。

文献

1) 新崎盛敏：科学，**24** (5)，218～223 (1954).
2) Drew, K. M.: Nature, **164** (4174)，748～749 (1949).
3) 黒木宗尚：東北水研研報，**2**，67～103 (1953).
4) 須藤俊造：日水会誌，**15** (11)，649～652 (1950).
5) 〃：〃 **16** (5)，171～174 (1950).
6) 〃：〃 **17** (8/9)，211～216 (1952).
7) 殖田三郎：〃 **6** (2)，91～104 (1937).
8) 和田英夫：〃 **10** (1)，47～59 (1941).

アサクサノリの "Conchocelis-Phase" からの胞子放出について

須藤俊造・丸山武男・梅林　脩

（東海区水産研究所）

日本水産学会誌

第二十巻 第六号 別刷

昭和二十九年十月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of

the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 20, No. 6. October. 1954

アサクサノリの "Conchocelis-Phase" からの胞子放出について

須藤俊造・丸山武男・梅林 脩
（東海区水産研究所）

On the Shedding of Spores from "Conchocelis-Phase" of *Porphyra tenera* Cultured in Shells of Bivalves

Shunzo SUTO, Takeo MARUYAMA and Osamu UMEBAYASHI

Shedding of spores from "Conchocelis-phase" of *Porphyra tenera* cultured in oyster shells was studied in laboratory.

1) Shedding occurs periodically everyday in the morning, chiefly between 7—10 am. At night any shedding could not be observed. In the dark shedding occurs too, thought it is somewhat retarded in time and is reduced in amount.

2) Shedding can be seen abundantly at the temperature of 12—22°C. At 9 and 24°C., it becomes small in amount. At 27°C., any shedding could not be observed.

3) Shedding occurs abundantly in the sea water keeping the density at 1,023. It decreases in amount in the water of lower density.

DREW (1949)[2] によつて *Porphyra umbilicalis* で見出された "Conchocelis-phase" がアサクサノリでも確認され[1,3] 秋に立込んだアミ・ヒビに始につくノリ胞子の少くも相当部分が之に由来すると考えられるようになつた。著者等はこの Conchocelis-phase から胞子が放出されて着生する条件を明らかにすることは、立込みをより合理的に行うために，又進んで人工的な胞子付けを行うために必要と考えて研究を行つている。現在までに得た結果の中，放出について二三の事項をここに報告する。

材　　料

1952 年 12 月～53 年 3 月，東京湾各地のアサクサノリの果胞子を品種[6] 別にカキ殼につけて室内で培養した。9 月に胞子嚢が多数（1 mm² に数個）出来ているのをたしかめたカキ殼を 1 cm² 位に小割りにして実験に使つた。

実 験 と 結 果

1. 材料数個宛を海水を容れた管瓶に入れ，田内式恒温槽に入れた。時々瓶を振つてから海水をシャーレにあけて中の胞子数をしらべ，管瓶は又海水を入れてもとに戻した。実験は 3 回行い，9 月 10 日，16 日及び 20 日に始め，夫々 9～12 日続けた。結果は何れも同様と思われたのでまとめて第 1 表に示した。実験開始後 1～4 日間は放出が少なかつたので除外し，5～12 日の間の結果を示してある。なお，実験開始前 10 日間の室温は 21°～25°C であつた。

1954 年 9 月 5 日受理
東海区水産研究所業績 B 第 16[illegible] 号
9

Table 1. Temperature and shedding of spores from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shells.

Form* \ Temp. °C	34	27	24	22	20	17	12	9
No. 2 (Akame)	dead	0/5	1/15	<u>3</u>/13	<u>9</u>/12	<u>10</u>/15	2/7	3/13
No. 4 (Asakusanori)	dead	0/5	0/7	6/15	<u>10</u>/12	6/15	5/9	1/13
No. 6 (Kosujinori)	dead	0/5	0/15	0/17	<u>9</u>/12	<u>8</u>/13	<u>7</u>/7	4/14
Total	——	0/15	1/37	<u>9</u>/44	<u>28</u>/36	<u>24</u>/43	<u>14</u>/23	8/40

Figure under oblique line shows the number of shells used and that above oblique line shows the number of shells from which spores were shed. Underline denotes that the shedding was in a considerable amount (more than 100 per 1 cm² of shell).

* See Suto (1950).

放出は 9°～24° にわたり見られたが，適温は中生及び晩生のアサクサノリで共に 17°～20° 附近，コスジノリはやゝ低く 17° を中心に 12°～20° と思われる。

2. δ_{15}=1.023 の海水中に培養してあつた材料を管瓶に入れ，海水を水でうすめて種々の塩分濃度にしたものを入れて室内におき，毎日振つて（1）と同様に胞子の放出数をしらべた。6 日後に全部を又もとの海水にもどした。3～6 日の結果を第2表に示した。1～2 日には差がはつきり出ず，3～6 日の結果と違いがあるので除いた。

Table 2. Water density and shedding of spores from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shells.

Shedding amount* \ Density	1.023	1.020	1.017	1.015	1.012
1.000	2	1	0	0	0
100	12	6	3	2	1
10	1	5	9	8	6
0	0	3	3	5	8

* Number of spores shed from 1 cm² of shell in a day.

表には示さなかつたが，1～2 日特に 1 日目には δ=1.012 でも相当多くの放出が認められた。又 6 日後に何れも δ=1.023 に戻したが，その後 5 日で何れも同様に多くの放出を示す様になつた。なお資料が少ないため各品種の結果をまとめて示したが，中生・晩生のアサクサノリにくらべて，コスジは 1.020 ですでに放出が著しく少い結果が見られたが，之はなお検討したい。

3. 9 月 20 日に材料を 9 組（3 品種各 3 組）に分け，あみに包んで千葉県青堀町地先ノリ場の干潮線下 0.3 m に入れた。3 日目の夕方から 3 組（各品種 1 組）を取りあげて海水と共に管瓶に入れて室内におき，時々振つてから海水をシャーレに取つて中の胞子数をしらべ，瓶には新らしい海水を入れる。翌日夕方，又あみに包んで海にもどした。つまり 2 日海におき，1 日室内で放出をしらべたわけで，9 月 24 日～10 月 14 日にわたつて続けた。結果は各品種とも同様なのでまとめて，朝～昼・昼～夕・夕～朝の時間別にして第 3 表に示した。なお朝～昼は暗箱に入れた場合を附記した。

室内及び暗箱内での放出の時間的変化の例を第 4 表に示す。

20 日にわたつて，放出は夜間は認められず，主に朝～昼に行われた。日によつて多少の相違はあるが，7～10 時に最も多く放出された場合が多い。暗い所でも放出は行われるが，やゝ遅れてだらだら行われる。曇天及び雨天で，特に日中温度の上らない日には暗い所に似た放出が見られた。

Table 3. Time of shedding of spores from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shells.

Shedding amount** \ Time	1200—2400	2400—0600	0600—1200 in light	0600—1200 in dark
1.000	0	0	7*	1*
100	1	0	5*	2*
10	3	0	26*	3*
0	32	16	8	8

* Spores in amoeboid movement were observed.
** Number of spores shed from 1 cm² of shell.

Table 4. The change of the shedding amount of spores from Conchocelis-phase of *Porphyra tenera* cultured in oyster shell in a day.

Time	0530—0700	0700—0830	0830—0915	0915—1020	1020—1120	1120—1220	1220—1330	1330—1430
Exp. 1, in light	0	1.0	5.2	6.5	0.9	0.2	0.	0.2
2, in light	0	7.0	14.1	5.0	2.3	0.1	0.3	0.2
3, in dark	0	0.5	3.2	6.8	2.8	1.9	0.2	0.7
4, in dark	0	0	0.6	4.1	0.7	0.4	0	0

考　　察

今までヒビ立て時の環境条件と，その後の発芽数との関係から，胞子の出現は水温 22° 以下，特に 20° 内外で多く，比重は高いほど良いことが推察されて来た。本実験の結果も大体これと近似しており，21°～25° で培養して来た Conchocelis からの胞子放出は 22°～9° で認められ，20°～17° が適温と見られる。コスジノリの適温はやゝ低く 17° 内外と見られるが，之もノリ場で少し季節が進んで水温が下つた時にはコスジが多く発芽するのとよく一致している。ところで 9° でもなお相当の放出が見られた。黒木[4] は室内実験で 1 月まで少いながら放出が続くのを報じており，海でも案外遅くまで Conchocelis からの胞子が、二次的な単胞子に混じてヒビにつくのではないかと思われる。

太田[5] は室内で Conchocelis 胞子を放出させ，之からノリ成体を育てることに成功した。この際，22° で行つた第 1・3 次実験で胞子が多くつき，18° で行つた第2次実験では少なかつたというが，之は温度の影響よりむしろ黒木[4] が示した様な，胞子放出の多い時期・少い時期にあたつたためではないだろうか。

水温については，温度のみでなくその変化が放出と関係があることも当然考えられる。(3) にのべた様に，室内では午前の温度が上る時に放出されており，曇天等で温度上昇の鈍い日には放出がだらだら行われる。温度の変化が放出量を左右するかどうかはわからないが，光と共に放出量の時間的変化には関係があると考える。

比重 1.023 で培養した Conchocelis からの放出は，比重が低下する程減少し，1.020 より下ると著しい。実験が少ないためはつきりいえないが，コスジでは 1.020 で既に著しく減少するらしい。之等もノリ場での今までの胞子付きで知られた所と一致している。表示しなかつたが、比重低下後 1（～2）日は放出の減少が少なく 1.012 でも相当放出され，又低比重に入れたものも 1.023 に戻すと数日後には高比重に保つたものと同様の放出を見た。之等から 1 日位低比重の日があつても他の条件が良ければ胞子が多くつくこと，比重が回復すれば数日で胞子付きも回復することが推察されよう。

室内での放出には日週期が明らかに認められた。これが前日まで海に入れた材料で，潮に関係なく（9 月

24日～10月14日で1潮以上に亘つている），朝～昼，特に7～10時にあらわれたのは意外であつた。夜は放出がなく，朝になつて行われることから光が関係すると始め考えたが，暗黒にしてもやゝ時間が遅れるが似た放出が見られた。曇天等で温度上昇の少ない日には暗黒の場合とやゝ似て放出が遅れている。山崎（1953年10月・口頭発表），黒木・平野（1954年4月・口頭発表）も室内実験で似た結果を報じている。日週期には光・温度共に関係があると考えるが，この点更に検討したい。ところでノリ場の胞子付けでは，大体大潮後の2～3日，即ち干潮が昼過ぎ及び夜半過ぎの時が最も良い。放出が海でも朝～昼に行われるとすると，満潮～引潮時に放出されていることになり，又他の日には或は引潮時に、或いは上潮時に行われることになる。山崎（1953年10月・口頭発表）は胞子が放出後1～2時間で着生能力が著しく減少することを報じている。とすると，最もよい胞子付け時期とされる大潮後の2～3日では，胞子は引潮に出るので，アミ，ヒビ等についたとしてもすぐ干出を受けることになる。多分海では、室内実験と違つて，潮汐と関係のある日週期を示すのではなかろうか。この点今後しらべてゆきたい。

しかし室内での放出は朝主に行われることはたしかで，人工胞子付けの際温度・比重等と共に考慮すべきであろう。

摘　　要

1. カキ殻に培養したアサクサノリ（及びコスジノリ）の Conchocelis-phase からの胞子放出の条件についてしらべた。

2. 21～25°C で培養したものを恒温槽に入れてしらべたところ，9～24°C で放出を見，17～20°C（コスジノリでは 17°C 内外）を放出の適温と認めた。温度の変化は放出を促すらしい。

3. $\delta=1.023$ で培養したものは比重が低下すると放出が減る。特に 1.017 以下（コスジノリで 1.020 以下）で著しい。比重低下後1～2日は減少が著しくなく，又減少したものも高比重にもどすと数日で放出を回復する。

4. 海に入れたものについて室内で放出をしらべた結果，夜には放出はなく，朝～昼，特に7～10時に主に放出された。暗黒中ではやゝ遅れるが大体似た放出が見られた。胞子付きから考えて，海での放出の日変化がこれと同様であるかどうか疑問がある。

文　　献

1) 新崎盛敏：科学，**24**，218～223（1954）.
2) Drew, K. M.: Nature, **164**（4174），748～749（1949）.
3) 黒木宗尚：東北水研研報，**2**，67～103（1953）.
4) 〃 ： 〃 **2**，104～108（1953）.
5) 太田扶桑男：熊本水試鏡分場報告（プリント）（1954）.
6) 須藤俊造：日水会誌，**15**（11），649～652（1950）.

漁 具 漁 法

FISHING GEAR AND METHODS

水中を動く網地が受ける水の抵抗—IV.
網　糸　の　吹　か　れ

野 村 正 恒・野 沢 靖
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻 第九号 別刷
昭和三十年一月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 9. January, 1955

水中を動く網地が受ける水の抵抗—IV. 網糸の吹かれ

野村正恒・野沢靖
(東海区水産研究所)

Resistance of Plane Net against Flow of Water——IV. On the Inclination of Threads in a Curret

Masatsune NOMURA and Yasushi NOZAWA

Since synthetic fiber was adopted for fishing nets, many problems have given rise due to its different properties from natural fiber. Among them there is configuration of the nets which is affected by currents more than that of natural fiber nets because threads of synthetic fiber such as Amilan or Vinylon are smaller in specific gravity.

For a preparatory study of the configuration of nets, tests have been carried out to clarify different inclinations of various threads in a current. In addition, experiments have been conducted on dyeing treatments of synthetic fiber threads for the purpose of decreasing the inclination, using dyeing materials such as coal-tar or its mixtures prepared with a commercial stone-powder, 15—, 30—, 45—percent in weight of the coal-tar base. Specification of the threads used for experiment is shown in Table 1.

Keeping one end of the threads, each 130 centimeters long, on the water level, the vertical distance h from level to the other end was measured under current speed v.

From Fig. 1 showing the relationship between v and h, it is noticed that the thread inclination denoted by h becomes larger as the diameter of thread d increased or coal tar dyeing is used.

Fig. 2 shows the comparison of h of various kinds of threads within almost the same value of d, and Fig. 3 the relationship between d and h by kind of threads, when current flows at 15 centimeter per second.

From these figures, the thread inclination are obtained, in increasing order as Saran, cotton, manila- twine, Amiran, Vinylon ; and in case of no dyeing, h of Vinylon is 40 to 60 percent, and Amilan 60 to 75 percent, of the inclination of cotton h_C. However, in coal tar dyeing, the difference decrease nearly to 10 percent.

Different inclinations of threads due to dyeing treatments are given in Figs. 4 and 5. By coaltar dyeing, Vinylon is most effectively decreased in the thread inclination.

From Fig. 6 indicating the forces acting on thread in a current, next formula may be led

$$P_\theta = \omega \cdot \cos\theta.$$

Taking the resistance coefficient C_P, the resistance P_θ is expressed by

$$P_\theta = \sigma/2g \cdot d \cdot C_P \cdot v^2$$

Where σ is the specific gravity of water, and g the acceleration of gravity. Hence,

$$C_p = \cos\theta / v^2 \cdot 2g / \sigma \cdot \omega / d.$$

In order to decrease the inclination of thread, *i.e.*, to increase the value of θ, it is desirable to make values of C_P as small and ω/d as large as possible.

On the base of the values of C_P for tested threads (Figs. 8, 9), it is obvious that Vinylon is the largest in the value, and Amilan the least, in case of no dyeing. Whereas, in coal tar dyed threads, C_P of Vinylon thread decreases almost to the same as of Amilan. On the other hand, in regared with the increasing ratio of ω/d by dyeing, Amilan is the largest followed by Vinylon (Table 2). Thus, the fact that Vinylon is remarkable for decreasing C_P, and Amilan for increasing ω/d, in coal tar dyeing, has led to a conclusion that the dyeing applied to these two

---

29年12月3日受理 東海区水産研究所業績B第166号(印刷費負担)

Table 1 供試網糸の諸値

Specification of threads used for experiments

Cotton thread 綿糸

Kind of dyeing 染料の種類	Size[1] 太さ	Diameter of wet thread 飽和吸水時の糸の直径 d cm	Weight in air[2] 空中重量 gr(5尺の長さ)	Weight in water[2] 水中重量 gr(5尺の長さ)	Value of w/d	Specific gravity calculated 計算比重 ρ
No dyeing 無染	11 匁[3]	0.674	37.26	1.37	0.13	1.58
	120 本	0.381	11.5	2.33	0.044	1.25
	54 〃	0.253	2.81	1.04	0.027	1.58
	36 〃	0.175	1.99	0.755	0.028	1.61
	24 〃	0.159	1.33	0.348	0.014	1.36
	15 〃	0.107	0.755	0.290	0.018	1.66
	6 〃	0.074	0.302	0.116	0.010	1.62
Coal-tar dyeing タール染	120 本	0.388	16.8	4.41	0.075	1.36
	54 〃	0.277	8.06	2.21	0.053	1.38
	36 〃	0.195	4.36	1.335	0.045	1.43
	24 〃	0.170	3.16	0.870	0.033	1.38
	15 〃	0.128	1.685	0.522	0.027	1.44
	6 〃	0.089	0.797	0.232	0.017	1.41
Coal-tar with stone powder mixtures on coal-tar base: タール染石粉 15%	120 本	0.389	17.8	5.46	0.073	1.44
	54 〃	0.292	9.56	2.90	0.065	1.43
	36 〃	0.211	5.02	1.856	0.058	1.58
	24 〃	0.192	3.72	1.39	0.047	1.59
	15 〃	0.127	1.93	0.638	0.033	1.49
	6 〃	0.093	0.87	0.290	0.020	1.50
タール染石粉 30%	120 本	0.376	19.3	4.99	0.087	1.34
	36 〃	0.225	5.50	2.10	0.061	1.61
	24 〃	0.136	3.99	1.45	0.070	1.57
	15 〃	0.123	2.19	0.812	0.043	1.58
	6 〃	0.087	0.92	0.348	0.026	1.61
タール染石粉 45%	120 本	0.384	18.7	7.19	0.124	1.62
	54 〃	0.289	10.3	4.06	0.093	1.65
	36 〃	0.199	5.64	1.45	0.048	1.34
	24 〃	0.182	4.32	1.04	0.037	1.32
	15 〃	0.141	2.69	0.869	0.040	1.48
	6 〃	0.083	1.30	0.464	0.037	1.55

Vinylon thread ビニロン

Kind of dyeing 染料の種類	Size[1] 太さ	Diameter of wet thread 飽和吸水時の糸の直径 d cm	Weight in air[2] 空中重量 gr(5尺の長さ)	Weight in water[2] 水中重量 gr(5尺の長さ)	Value of w/d	Specific gravity calculated 計算比重 ρ
No dyeing 無染	Ku. 54本[4]	0.247	2.81	0.638	0.017	1.29
	Ka. 30〃[5]	0.190	1.62	0.429	0.014	1.36
	Ka. 18〃	0.160	0.934	0.290	0.012	1.45
	Ku. 15〃	0.145	0.816	0.232	0.0107	1.39
	Ka. 12〃	0.112	0.621	0.116	0.0068	1.23
	Ku. 6〃	0.087	0.302	0.092	0.0070	1.43
Coal-tar dyeing タール染	Ku. 54本	0.276	7.64	2.20	0.052	1.40
	Ka. 30〃	0.208	4.39	0.986	0.031	1.29
	Ka. 18〃	0.158	2.99	0.639	0.026	1.27
	Ku. 15〃	0.141	2.26	0.464	0.021	1.26
	Ka. 12〃	0.114	1.499	0.348	0.020	1.34
	Ku. 6〃	0.075	0.696	0.174	0.015	1.33
Coal-tar with stone powder mixtures on coal-tar base: タール染石粉 15%	Ku. 54本	0.256	8.04	2.32	0.060	1.41
	Ka. 30〃	0.208	5.22	1.45	0.056	1.38
	Ka. 18〃	0.183	3.53	0.869	0.031	1.33
	Ku. 15〃	0.144	2.81	0.755	0.034	1.30
	Ka. 12〃	0.129	1.85	0.557	0.028	1.43
	Ku. 6〃	0.094	0.87	0.290	0.020	1.50
タール染石粉 30%	Ku. 54本	0.276	9.45	2.66	0.063	1.39
	Ka. 30〃	0.229	5.85	1.62	0.046	1.38
	Ka. 18〃	0.174	4.02	1.1	0.041	1.38
	Ku. 15〃	0.155	3.17	0.81	0.034	1.34
	Ka. 12〃	0.128	1.99	0.522	0.027	1.36
	Ku. 6〃	0.089	0.99	0.349	0.025	1.54
タール染石粉 45%	Ku. 54本	0.283	11.8	3.77	0.088	1.47
	Ka. 30〃	0.217	7.2	2.32	0.070	1.48
	Ka. 18〃	0.183	4.96	1.68	0.061	1.51
	Ku. 15〃	0.158	3.96	1.28	0.053	1.47
	Ka. 12〃	0.134	2.50	0.812	0.040	1.48
	Ku. 6〃	0.088	1.11	0.487	0.036	1.77

Amilan thread アミラン

Kind of dyeing	Size	Diameter d cm	Weight in air	Weight in water	Value of w/d	Specific gravity ρ
No dyeing 無染	72 本	0.293	3.65	0.348	0.0078	1.10
	60 〃	0.239	2.75	0.290	0.0080	1.11
	36 〃	0.183	1.64	0.220	0.0079	1.15
	12 〃	0.095	0.57	0.069	0.0048	1.13
	9 〃	0.093	0.42	0.034	0.0023	1.08
Coal-tar dyeing タール染	72 本	0.276	6.89	1.16	0.027	1.20
	60 〃	0.229	5.04	0.695	0.020	1.16
	36 〃	0.177	2.98	0.232	0.013	1.12
	12 〃	0.104	0.98	0.174	0.016	1.21
	9 〃	0.089	0.72	0.081	0.006	1.12
Coal tar with stone powder mixtures on coal tar base: タール石粉染15%	72 本	0.259	8.07	1.975	0.050	1.31
	60 〃	0.241	5.85	1.220	0.036	1.26
	36 〃	0.177	3.29	0.755	0.028	1.30
	12 〃	0.103	1.11	0.290	0.028	1.35
	9 〃	0.091	0.87	0.145	0.0159	1.20
石粉30%	36 本	0.169	3.72	0.523	0.030	1.16
	12 〃	0.100	1.30	0.290	0.019	1.28
	9 〃	0.084	0.93	0.139	0.016	1.17
タール石粉染45%	72 本	0.269	9.55	2.73	0.067	1.40
	60 〃	0.239	7.05	1.97	0.054	1.39
	36. 〃	0.184	4.31	1.16	0.041	1.37
	12 〃	0.107	1.66	0.63	0.039	1.61
	9 〃	0.096	1.30	0.348	0.024	1.36

Manila twine thread マニラトワイン

Kind of dyeing	Size	Diameter d cm	Weight in air	Weight in water	Value of w/d	Specific gravity ρ
No dyeing 無染	10 匁[3]	0.725	29.1	8.94	0.081	1.43
	2.3〃	0.379	7.43	2.44	0.042	1.49
	1.6〃	0.349	5.40	1.39	0.026	1.34
	0.8〃	0.242	3.23	1.04	0.028	1.47
Coal-tar dyeing タール染	10 匁	0.771	42.2	10.3	0.088	1.32
	2.3〃	0.437	13.5	3.42	0.051	1.25
	1.6〃	0.347	9.12	2.21	0.042	1.32
	0.8〃	0.255	4.55	1.22	0.031	1.37
Coal tar with stone powder mixtures on coal tar base: タール石粉染15%	2.3匁	0.391	13.6	3.77	0.063	1.38
	1.6〃	0.361	9.95	2.44	0.044	1.32
	0.8〃	0.214	5.47	1.68	0.052	1.44
石粉30%	2.3匁	0.365	11.7	3.95	0.071	1.51
	1.6〃	0.319	10.4	3.19	0.066	1.44
	0.8〃	0.237	6.34	1.86	0.052	1.41
タール石粉染45%	10 匁	0.811	51.8	14.5	0.118	1.39
	2.3〃	0.352	13.8	4.75	0.089	1.52
	1.6〃	0.334	11.0	4.07	0.080	1.58
	0.8〃	0.256	6.99	2.55	0.066	1.57

Saran thread サラン

Kind of dyeing	Size	Diameter d cm	Weight in air	Weight in water	Value of w/d	Specific gravity ρ
No dyeing 無染	$300^D \times 18$[6]	0.101	1.08	0.384	0.025	1.55
	$750^D \times 27$	0.174	3.23	1.33	0.050	1.70
coal-tar	〃	0.177	4.35	1.69	0.063	1.63
15 %	〃	0.181	4.39	1.79	0.065	1.69
30 %	〃	0.176	4.68	1.80	0.068	1.68
45 %	〃	0.191	5.68	2.03	0.070	1.56

Note ;

(1) : Expressed by number of yarns unless specified other-wise.

(2) : Values measured in 151 centimeters long.

(3) : Expressed by unit of weight *Monme* (1 *monme*=3.75 grams) per 5 feet.

(4) : Ku. is Kuremona.

(5) : Ka. is Kanebian.

(6) : Number of denier times number of yarns.

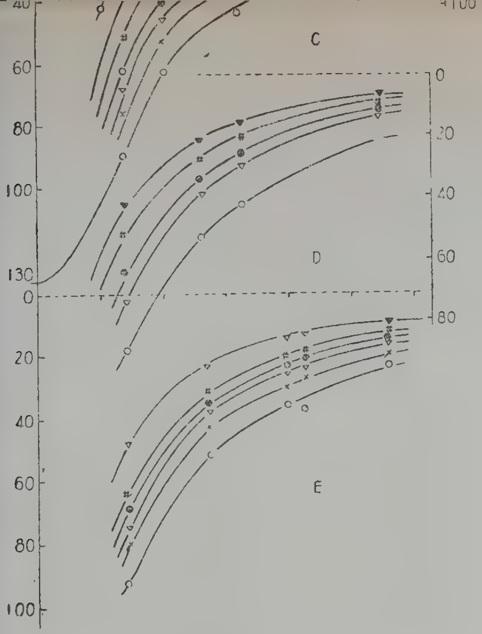


Fig. 1

1. cotton thread

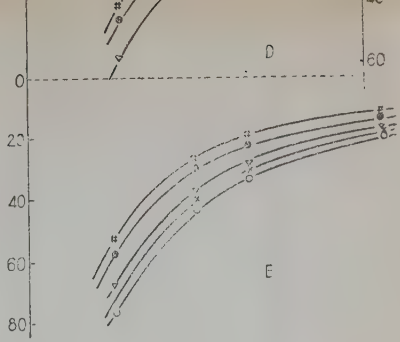


Fig. 1 (Continued)

2. Amilan thread

速度 v と網糸の端に於ける深さ h との関係

The relationship between current speed v and depth h reached by theend of the thread.

Legend

◉ : 20′s, 11 (*Monme*)
○ : 〃 120 (Number of yarns)
× : 〃 54 (〃)
▽ : 〃 36 (〃)
● : 〃 24 (〃)
: 〃 15 (〃)
▼ : 〃 6 (〃)

Note

A : No dyeing 無染
B : Coal-tar dyeing タール染
C : Coal-tar with 15 % stone powder on coal-tar base タール石粉 15 %
D : Coal-tar with 30 % stone powder on coal-tar base タール石粉 30 %
E : Coal-tar with 45 % stone powder on coal-tal base タール石粉 45 %

Legend

○ : 250D, 72 (Number of yarns)
× : 〃 60 (〃)
▽ : 〃 36 (〃)
● : 〃 12 (〃)
: 〃 9 (〃)

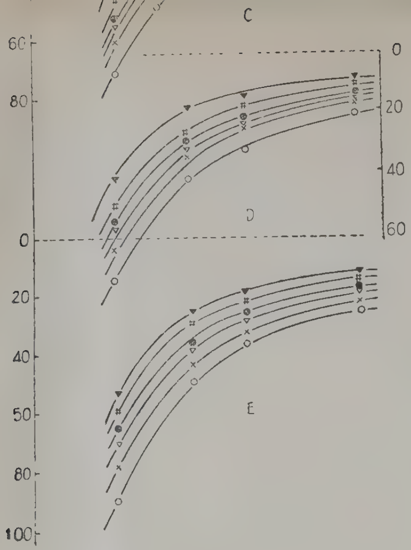


Fig. 1 (Continued)

3. Vinylon thread

Legend

○ :	Kuremona 18's,	54	(Number of yarns)	
× :	Kanebian 〃	30	(〃	)
▽ :	〃 〃	18	(〃	)
● :	Kuremona 〃	15	(〃	)
# :	Kanebian 〃	12	(〃	)
▼ :	Kuremona 〃	6	(〃	)

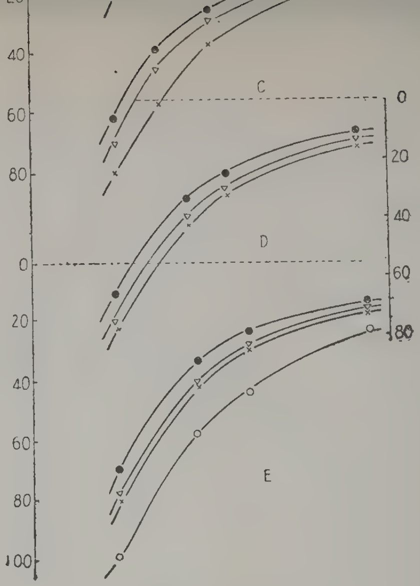


Fig. 1 (Continued)

4. Manila twine

Legend

○ : 10 (Monme)
× : 2.3 (〃)
▽ : 1.6 (〃)
● : 0.8 (〃)

kinds of threads is efficient for decreasing the thread inclination by current.

§ 1. 緒　　言

合成繊維漁網は最近急速な勢いを以て普及実用化されて来ているが，在来の植物繊維製漁網と異る性質の一つとして比重の相違があげられ，そのために漁具の構成或は操作上に色々な問題を提供している。

比重が小さいために網の吹かれが大きくなることは定置網のように静止水中に於て所期の網成りを保ち，流れによつて網成りを崩されるような種類のものに特に致命的な影響をもつことは，実際に合成繊維を使用して実地試験を行つた三重水試[1)2)3)]京都府水試[4)]その他これを実際に使用した漁場[5)]の経験等に依つて明らかであり，この為にある種の合成繊維はその最大特徴である腐敗しないという利点を殺してまでもコールタール染して使用しなければならない現状にある。そしてわざわざ比重を大きくする為の特殊染料も研究されている現状であるが，まだ充分満足される迄にはなつていない。

従つて此処では網地に就いてのそれらの問題を取扱う前提として，まづ網糸について従来の植物繊維製網糸と各種合成繊維製網糸との間の吹かれの相違を無染糸及びコールタール染糸の二つにつき実験した。

§ 2. 網糸の種類と実験方法

実験に使用した網糸は綿，マニラトワイン，アミラン，ビニロン，サランの無染のものと，それぞれをタール染したもの及び比重を更に大きくする為にタール中にタールの重量の 15%，30%，及び 45% の石粉を混ぜたもので網糸を染めたもの五通りである。之等供試糸の詳細は第1表に示してある。尚，タール染にあつては糸をタールの中に浸けて引き上げた後，乾かしたもので，綿の場合は自重の凡そ 1.2～1.4 倍のタール分が附着していた。

網糸は長さ 130cm に切り，之を水に漬けて充分吸水させてから，船型試験用の水槽上を走るトラック上から水面まで下げた桁に一端を固定し，他端を水中に自由に垂らしてトラックを走らせ 8～60cm/sec. の範囲の各種の速度で曳行して，流れの抵抗のため吹かれた他端の水面からの深さ h を読みとつた。曳行速度の極めて遅いところ，即ち糸が吹かれ始める所をも実験する必要があつたがトラックの構造上この様な低速を出すことが出来なかつた。また正確な糸の抗力係数 C_D を求めるためには糸にかゝる抵抗を測定する必要があるが，一本当りの抵抗が非常に小さくて正確に測定することが難しかつたので行わなかつた。

§ 3. 実験の結果

網糸の種類別，染料別の糸の先端に於ける深さ $h$cm と速度 $v$cm/sec. との関係を第1図に示した

一般的に云つて糸は速度が0から 10cm/sec. 内外の範囲で急激に吹かれ，それからは速度が速くなるにつれて吹かれかたが漸次減少し，ほゞ一定の高さまで吹き上げられるとそれ以上は速度が増しても吹かれは極めて少くなる。又糸は太くなるほど，タール分が附着して重くなるほど吹かれにくゝなつて行く。

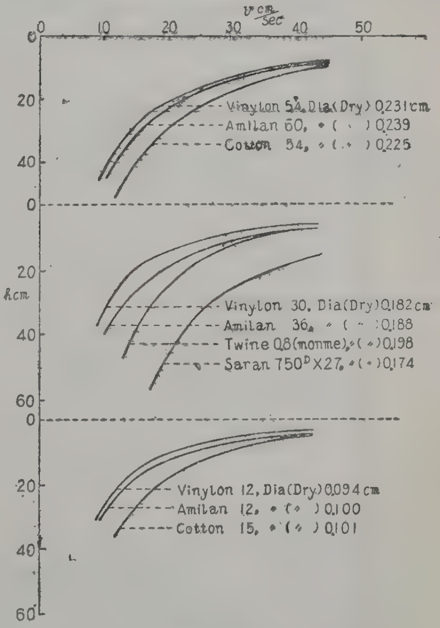


Fig. 2　糸の種類による吹かれの相違
The relationship between v and h in various kinds of threads having approximate diameter.

同じ太さ(d)の糸で種類の異るものの吹かれ方を比較する為，第1図から太さの略ゝ等しいものの無染の

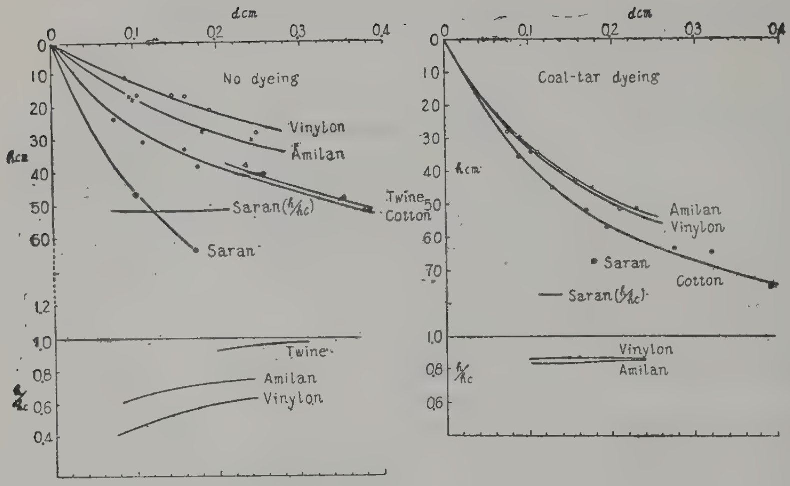


Fig. 3 無染及びタール染に於ける $h \sim d$, $h/h_C \sim d$ 曲線

The relationship between h and diameter of thread d, and between relative value with cotton h/h_C and d.

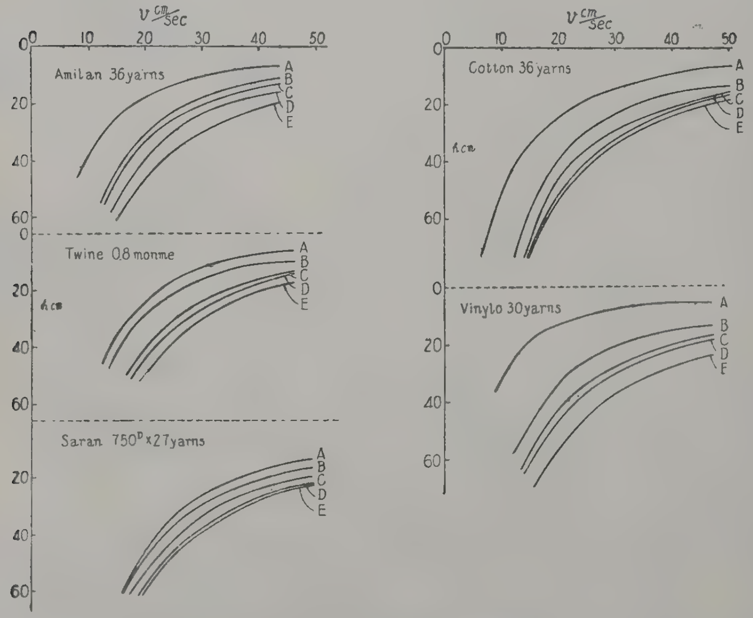


Fig. 4 染料による吹かれの相違（糸の種類別）

The relationship between v and h, of threads by kind of dyeing.

糸を選んで第2図に示した。

之に依ると，サラン，綿，トワイン，アミラン，ビニロンの順に吹かれ易くなつている。即ち一般的には比重の軽いものが吹かれ易い傾向にあるが，とくにビニロンがアミランより吹かれ易い結果を示したのは，無染のビニロンは表面のケバ立ちが多いことや糸の表面の粗滑の違いに原因するものとみられる。今仮りに流速 15cm/sec 附近について網糸の種類による吹かれの程度を比較するため，横軸に湿潤時の糸の直径 d cm

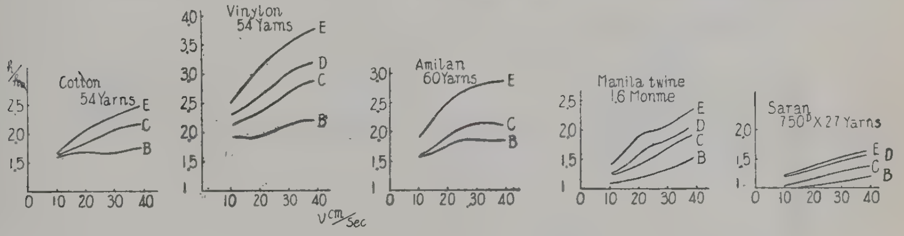


Fig. 5 染料による吹かれ防止の効果（$v \sim h/h_0$ 曲線）

The relationship between v and relative value with no dyeing h/h_0.

を縦軸に $v=15$cm/sec. の時の吹かれの深さ h を各種類の糸について無染の時とタール染とに分けて書き，更にこの図から綿糸の h を h_σ として各糸の h との比 h/h_σ を計算し，$h/h_\sigma \sim d$ の関係を求めて第3図を得た。

無染の場合，各糸の間の吹かれ方の違いは大きく，同じ太さの糸で較べると，ビニロンは綿の4～6割，アミランは綿の 2.5～4割を余計に吹き上げられる。糸が太くなるほど綿との吹かれの比は幾分減少してくる傾向がある。タール染をした糸になると綿との相違は非常に少なくなつて1割強の変化に過ぎなくなつて来る。そして石粉を入れる割合が多ければ多いほどわずかではあるがその違いは少くなつてくる様である。

このタール染その他による吹かれの違いを各種の同じ太さの糸について見る為に，第1図から同じ糸について無染，タール染，タール染中に石粉 15% 混入のもの，30%，45%，のものを写しとつて第4図にその一例を示した。

図によると，どの種類の網糸も無染糸はタール染糸に較べて非常に吹かれ易く，タール染の効果の大きいことが判る。更に石粉を混入することは吹かれの防止にとつてより効果的であることが判る。

更に，第5図には大体太さの等しい各種の糸について無染の場合の深さ h を h_0 とし，之とタール染，石粉の 15%，30%，45% のそれぞれに於ける h との比 $h/h_0=\sin\theta/\sin\theta_0$ の値を第1図から各速度について求めたものを示した。

この図を見れば，タール染をすることによつて吹かれを防止する効果はビニロンについて一番有効であることが判る。次いでアミランも非常に有効であるが，以下，綿，トワイン，サランの順でその効果は小さくなる。この事はビニロン網地がコールタール染することによつて実際の操業には余り不便を感じていない事実によく一致する。

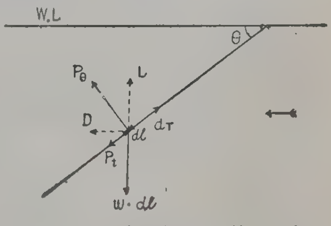


Fig 流中水に於ける糸に働く力

Forces acting on a thread in a current.

タール中に石粉を混ぜて染めることにより糸の水中重量 w を増すことは吹かれの防止に有効であることが判るが，タールに混ぜる石粉の量は粘調度の関係から 25% 位までを限度とする様である。石粉を混入したタールは染めてから後仲々乾きにくかつた。実際使用の場合は石粉の混入によつてコールタールの剝脱の程度に差を生じるかどうかを確かめる必要がある。

§ 4. 実験結果の検討

網糸の一端だけが支えられて自由に垂下された状態で水中を或る速度で曳かれた場合（第6図）網糸の長さを l，糸の直径を d，単位長の水中重量を ω，網糸の吹かれの傾斜角を θ，単位長に対する圧力抵抗を P_θ，摩擦抵抗を P_t，揚力を L，抗力を D とし，且つ網糸はどこの部分も均質とみなして吹かれた形が直

線状をなすものとする。

垂下した糸の任意の点につき，dl 部分の力の釣合は（第6図）

$$dT=\omega\cdot dl\cdot\sin\theta+P_l\cdot dl \qquad (1)$$

$$\omega\cdot dl\cdot\cos\theta=P_\theta\cdot dl \qquad (2)$$

また

$$L=\frac{\sigma}{2g}\cdot d\cdot C_L\cdot v^2$$

$$D=\frac{\sigma}{2g}\cdot d\cdot C_D\cdot v^2$$

但し C_L，C_D は夫々揚力と抗力の係数，σ は水の比重，g は重力の加速度とする。

$$P_\theta=L\cos\theta+D\cos\theta \qquad (3)$$

従って(2)より

$$\omega\cdot\cos\theta=\frac{\sigma}{2g}\cdot d\cdot v^2(C_L\cos\theta+C_D\sin\theta) \qquad (4)$$

wire と cable について θ が $0°$ から $90°$ 迄の C_L と C_D との値について風洞実験した結果[6]によると，C_D と C_L は共に $\theta=0°$ のとき殆んど0で，C_D は θ が増すと共に sine curve の様な曲線を示し $90°$で最大になり，その値は約 $C_D=1.1\sim1.2$ となる。一方 C_L は $\theta=55°$ 附近が最大で $C_L=.42$,それ以後減少して $90°$ で0となる滑らかな山形の曲線をなす。而して曲線の形は幾分異るが $40°$ 附近までは C_L, C_D 共に略々等しい値を示している。絹糸の場合も大体同じ様な傾向をもつものと考えられるから，まづ θ と C_D との関係を見る事にする。使用した糸の太さ及び染料により幾分の違いはあるが，$v=15$cm/sec.位から速いところでは θ は大体 $40°$ 以下であるので，今 θ がこの値以下に於ては $C_D\fallingdotseq C_L$ とすると，(4) から

$$C_D(\tan\theta+1)=\frac{2g}{\sigma\cdot d}\cdot\frac{\omega}{v^2} \qquad (5)$$

となる。無限に長い円柱が流れに垂直におかれたときの抗力係数 C_D はレーノルズ数(R_e) の函数になるが大体 $R_e>5\times10^2$ では臨界 R_e 数までは略々一定に近いので[7]，此の範囲の R_e 数を採用するとして R_e 数を各実験について計算し，之が 5×10^2 より大きいものについて，(5) 式より C_D を計算した。この値と θ との関係を第7図に示した。尚同図には wire の場合の C_D，C_L の曲線も載せて比較した。

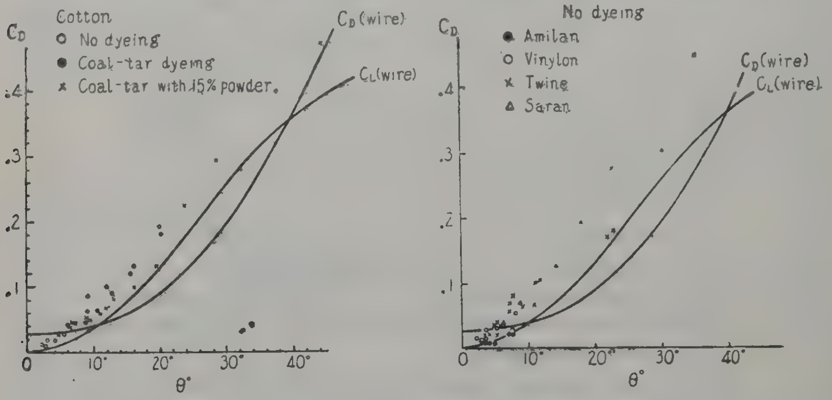


Fig. 7 θ と C_D との関係
The relationship between angle θ and resistance coefficient C_D.

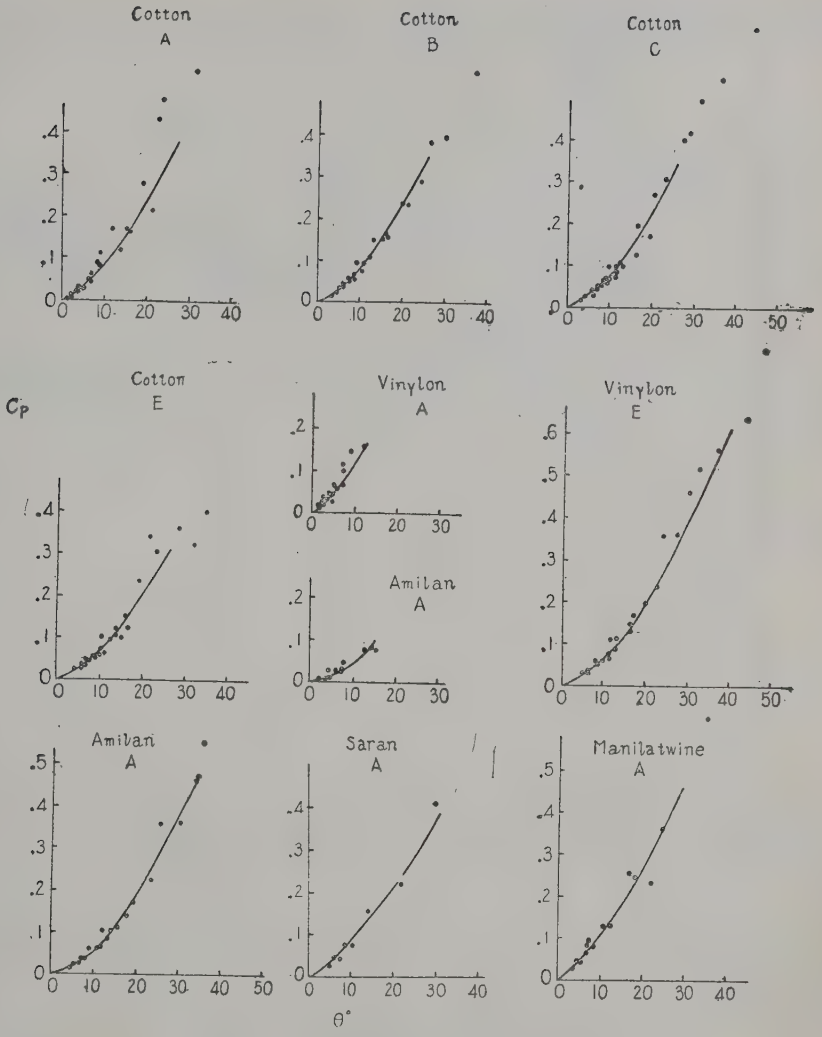


Fig. 8 糸の種類・染料別の $\theta \sim C_P$ 曲線

The relationship between θ and C_P.

之によると C_D の値は 40° 位までは wire の値に比べて R_e 数は異るとしてもいづれも幾分大きい値を示している。又糸の種類により，染料の如何によつて若干相違がある様であるが，大したことはない。然し之だけでは θ の各値における C_D の値は正確には求められない。この実験では各種の糸の吹かれの違いが何によつてどの程度起るかを調べることを目的としたので，この意味で P_θ を直接次の様に置いて計算を行つた。

$$P_\theta=\frac{\sigma}{2g}\cdot d\cdot C_P\cdot v^2 \quad\cdots\cdots(6)$$

こゝで係数 C_P は当然 θ の変るに従い変化しその曲線は $f(\sin\theta)$ で表はされ最近の川上[8]による流水

中に於けるロープの形状の研究では略 $\sin^2\theta$ に比例すると考えてよい。(6)式と(2)式から

$$C_P=\frac{\cos\theta}{v^2}\cdot\frac{2g\cdot\omega}{\sigma\cdot d} \qquad \cdots\cdots(7)$$

となるのでこの式から C_P の値を計算し，第8図には C_P と θ との関係を各種の糸について示した。更に比較のため，特に無染のものについて各種類のものを第8図から写しとつて第9図に示した。

結果によれば，同一種類のものでは太さ d に殆んど無関係である。又無染のものでは C_P の値はビニロンが一番大きく，以下トワイン，綿，サラン，アミランの順序になつている。これは恐らく表面の状態主にケバ立ちに関係しているためと思われる。然し之等を一旦タールで染め表面の状態をいづれも皆同じ様にしてしまうと石粉を混入して染めたものまでも含めて全部が殆んど同じ様な曲線を示し，大凡，無染の場合におけるサランとアミランの間の値ぐらいになる。従つてタールを染めることによつてビニロン，トワインでは C_P の値は小さくなるが，其の他の糸ではあまり変化しない。

(7)式から糸が吹かれにくい為の条件は C_P を小さく，ω/d 即ち $d(\rho-1)$,〔但し ρ は糸の比重〕を大きくする事が必要となる。糸をタール染めすることは C_P の値を特にビニロン，トワインについては小さくすることであり，而も ω/d の値は増加するので吹かれ防止に役立つことがわかる。ω/d の増加の仕方については第1表の ω/d の値から各種類について無染のときの値を 100 として計算した平均値を第2表に示す。

これによれば，ω/d の増加のしかたはアミランが最大で次でビニロン，綿，トワイン，サランの順序であり，サランでは殆ど増加しない。

吹かれの h を同じくするときの2つの糸の間の関係は次の様になる。

$$\frac{v^2{}_1}{v^2{}_2}=\frac{C_{P2}}{C_{P1}}\cdot\frac{\dfrac{\omega_1}{d_1}}{\dfrac{\omega_2}{d_2}}$$

θ が同じだから，同一種類の糸なら $C_{P1}=C_{P2}$ 即ち

$$\frac{v^2{}_1}{v^2{}_2}=\frac{\dfrac{\omega_1}{d_1}}{\dfrac{\omega_2}{d_2}}$$

となる。又実際に ω と d とを実測し得たとき，任意の v に於ける θ を求めるには，あらかじめ，各種の糸についての $C_P\sim\cos\theta$ の曲線を第8図から求めておけば

$$n=2g\times\frac{\omega}{d}\cdot\frac{1}{v^2}$$

を計算することにより，$C_P=n\cdot\cos\theta$ の直線との交点の読みから θ を求めることができる。

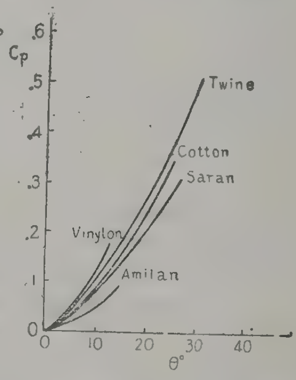


Fig. 9 無染のときの $\theta\sim C_P$ 曲線
The relationship between θ and C_P in case of no dyeing.

Table 2. ω/d の増加率
Value of ω/d compared with that of no dyeing.

		No dyeing 無染	Coal-tar dyeing タール染	Coal-tar with stone powder mixtures on coal-tar base 15% タール石粉15%	30% タール石粉30%	45% タール石粉45%
Cotton	綿	100	180	229	283	300
Vinylon	ビニロン	100	241	325	354	500
Amilan	アミラン	100	168	546	490	795
Manila twine	トワイン	100	126	168	201	225
Saran	サラン	100	126	130	136	140

終りに本実験に当り，御指導，御鞭韃をいたゞいた漁具科長宮本秀明，原稿の御校閲を賜つた漁具漁法部長高山重嶺及び所長源生一太郎の諸氏に衷心より感謝の誠を捧げる。又文献紹介の労をいたゞいた漁船研究室横山技官に厚く御礼申し上げる。猶本研究費の一部は文部省科学研究費によつた。

文 献

1) 三重水試：定置漁網に対する合成繊維(第一報)，三重県水試時報 170 (1952).
2) 同 上：同 上（第二報)，同 上 173 (1953).
3) 三重県水試尾鷲支場：定置網に対する合成繊維の適否試験（第三報)，(1954).
4) 京都府水試：合成繊維漁網実用化試験報告 (1953).
5) 日本定置漁業協会：合成繊維漁網調査報告，ていち 1，69～74 (1954).
6) DIEHL : "Engineering Aero dynamics", New York (1928).
7) 藤本武助：応用流体力学，丸善，東京 (1941), pp. 481～482
8) 川上太左英・坪田文雄：流水中に支えられた曲りやすい網の形状と張力の分布 I，京都大農水研究速報 13, (1951).

海水中に浸漬された網糸の強さの変化について—I.
合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度と溫度との関係，及び各種網糸の海水浸漬による強さの變化の比較

下 崎 吉 矩
（東海区水産研究所）

On the Change in Strength of Netting Cords Immersed in the Sea—I.
Relation between the Strength of Synthetic Netting Cords and the Temperature, and Comparison of Power of Various Kind of Cords Changing when Immersed in the Sea

Yoshinori SHIMOZAKI

Synopsis

A series of field experiments has been carried out in order to clarify how the strength of netting cords changes while immersed either continously or intermittently in the sea for a long time.

Materials of the cords tested in the study include four kind of synthetic cords and three sorts of natural cords, the specifications of which are shown in Table 1. One of the synthetic cords, Amilan, is constructed with fibres made from carbolic acid and has the same chemical construction as Nylon; Cremona and kaneviyan, both Polyvinyl synthetic cords, the fibre of which is made from carbide; Saran consists of Vinyle chloride synthetic fibre.

The test materials were classified into A_1, A_2, B_1 and B_2, according to the ways as explained in foot notes of Figs. 2 and 3 and in the following.

Dying of the natural netting cords was conducted more carefully than usual, treating five times with 4% cutch solution and fixing twice with 1% $K_2Cr_2O_7$ solution.

One half of each kind of the natural cords thus treated was regarded as A group together with a part of non-dyed synthetic cords, and the test of the natural and synthetic cords (B group) was dyed wtth coal tar.

An installation employed for immersing the sample cords is illustrated in Fig. 1 (a, b). Breaking strength and elasticity of the cords were tested every 30 or 45 days, the results of which are as follows.

(1) Relation of the breaking strength or elaslticity with the experimental preiod and the temperature at the time of testing has been obtained as in Figs. 2 and 3.

(2) It has been confirmed in another laboratory experiment of synthetic cords that the breaking strength of the cords is reduced, but their elasticity increases, in proportion to the temperature of the cords when they are tested. The relation between breaking strength S or elasticity E and temperature θ may be expressed by the following experical formulae.

1954 年 7 月 12 日受理 東海区水産研究所業績 B 第 159 号

$$S=a+b\vartheta \qquad E=a'+b'\theta$$

(3) The breaking strength and elasticity are reduced as time elasps, even when these synthetic cords are stored as they stand. It seems, however, that the relations as shown in paragraph 2 hold still good, and that although each value of a, b, a' and b' decreases little by little under the same condition during two to three years of storage, there has hardly occurred any change in the value of b/a and of b'/a'.

(4) When the breaking strength at θ°C of the cord which has been left in a room for t days is written as $S_{\theta t}$, and the breaking strength of the cord at θ°C and $t=0$ as $S_{\theta 0}$, they can be shown by the following formulae; because $b_0/a_0=b/a=m$, where m is constant.

$$S_{\theta t}=a(1+m\vartheta) \qquad S_{\theta 0}=(1+m\vartheta)$$

Hence, the change of the breaking strength is

$$\frac{S_{\theta t}}{S_{\theta 0}}=\frac{a}{a_0}=\frac{f_{(t)}}{a_0}$$

In the same way as above, the elasticity at θ°C after t days and at θ°C, $t=0$ can be written as following.

$$E_{\theta t}=a'(1+n\vartheta) \qquad E_{\theta 0}=a'_0(1+n\vartheta)$$

Therefore, the change in the elasticity is

$$\frac{E_{\theta t}}{E_{\theta 0}}=\frac{a'}{a'_0}=\frac{\varphi(t)}{a'_0}$$

(5) The value of a, b, a' and b' of the synthetic cords belonging to A group but not used for the field were obtained by laboratory test. Providing that the relations described in paragraph 4 can be applied to the cords immersed in the sea, ratios between $S_{t\theta}$ and $S_{\theta 0}$, $S_{\theta t}/S_{\theta 0}$, and between $E_{\theta t}$ and $E_{\theta 0}$, $E_{\theta t}/E_{\theta 0}$, may be expressed as in Figs. 7 and 8.

(6) It has proved that even cotton, ramie and Manila hemp cords couled preserve their strength for a considerable length of time. The detailed results will be reported in the near future.

I 緒　　言

合成繊維網糸が長期間海水中に浸漬された場合におこる抗張力並びに破断伸度の変化については，本多[1]並びに土居等[2]の報告があるが，それらによると両者の得た結果には可成りの相異がある。これは試験の方法や供試材料の相違等によつておこるとも考えられ，その真相がわかつていない。著者は網地の使用命数に関する研究の一環として，合成繊維並びに天然繊維の網糸数種を海水中に浸漬して，長期間に亘つてそれらの網糸の抗張力及び破断伸度の変化について検べているが，これに就いて一二の知見を得たのでこゝに報告する。

II 試験の部

1. 供試糸

試験に使用した網糸は，その太さが 20 番手 54 本の綿糸に略ゞ匹敵する 4 種の合成繊維網糸及び 3 種の天然繊維網糸で，その詳細は第 1 表に示す。

第 1 表に示したそれぞれの網糸は次の様に染めた。

(A) カツチ染

綿糸；素糸を約 2 時間白煮後日乾し，4 %のカツチ溶液中で 2 時間煮沸染糸してから放冷し，12 時間後に取出して日乾した。之を上と同様な液で更に 2 回，各 12 時間浸して染め，乾燥後 1 %の重クロム酸カリ溶

Table 1. Specification of the cords for field test.

供試糸の品名 Name of the test-cord	細糸の構造と太さ Construction and thickness of the cord	熱処理 Heat treatment	撚数 10 cm 当り Number of twist per 10 centimeter 上撚数 For cord	下撚数 For strand
アミラン Amilan	250 デニール，3 子，57 本 250 denier，3 strands 57 yarns	処理済 Treated	35	87
クレモナ Cremona	20 番手，3 子，57 本 20 hank，3 strands，57 yarns	無処理 Untreated	39	87
カネビヤン Kaneviyan	20 番手，3 子，57 本 20 hank，3 strands，57 yarns	無処理 Untreated	43	81
サラン Saran	750 デニール，3 子，27 本 750 denier，3 strands 27 yarns	処理済 Untreated	40	80
綿糸 Cotton	20 番手，3 子，54 本 20 hank，3 strands，54 yarns	—	51	120
マニラ麻 Manira hemp	1.3 匁 /5 尺 3.2 gr. per meter	—	—	—
ラミー Ramie	17 番手，20 本 17 hank 20 yarns.	—	40	150

Where, for iustauce, "250denier (20hank), 3 strands, 57 ynrns" shows its cords constructed with 3 strands, everyone of which consists of 57 yarns with thickness of 250 denier (20hank).

液中に約2時間浸し，取出して水洗後日乾した。以上の処理に，更に煮沸処理を除く前と同じ処理を施して染めあげた。

ラミー及びマニラ麻；煮沸処理だけを除き，綿糸と全く同様に染めた。

各種合成繊維網糸；染着せず。

(B) コールタール染

各種天然繊維網糸；(A) に述べた処理を施した後，25°C のコールタール中に 10 分間浸漬し，取りあげて軽くしぼつて風乾した。

各種合成繊維網糸；無染の網糸を天然繊維網糸と同じく上記の方法で染めた。

(A)，(B) による染付け結果，染料の染着状態は外観上何れも良好とおもわれた。コールタールの成分は目下分析中であつて，その組成は追つて発表する。

2. **試験期間** 自 1952 年8月 至現在 ('54 年1月)

3. **網糸の浸漬場所** 神奈川県足柄下郡真鶴町海岸

4. **試験機** スーター式セリグラフ；引張速度，0.3 cm/sec

5. **試験方法**

カツチ染後重クロム酸カリ固定を行つた綿糸，ラミー，マニラ麻及び無染の合成繊維網糸全部を A 群とし，コールタール染した網糸の総てを B 群とした。又，それぞれの群につき，各種の網糸を永続的に海水中に浸漬するものを夫々 A_1 群及び B_1 群とし，2 日毎に海水浸漬と風乾或は日乾を繰返すものを夫々 A_2 群及び B_2 群とした。上記の様に別けた各種の網糸 12 本宛を一束とし，第1図 a の如き金枠に縛りつけ，これを同図 b の如き筏にとりつけて海中に浸漬した。網糸の長さは，金枠の縦の長さより水中で 2 cm 位長くなる様にした。

A_2 群の網糸の中，綿糸，ラミー及びマニラ麻糸は 2 日毎にとりあげる際日乾することとし，A_2 群の残りの網糸と B_2 群の網糸全部とは日光の直射を避けて風乾することにした。

これ等各群の各種の網糸一束づつを 30 日乃至 45 日毎にとりあげ，その抗張力及び破断伸度を測定し，

且つ自記装置により応力ー歪曲線を記録した。浸漬場所から送附されて来た網糸は約一週間清水中に浸し，湿潤状態で測定を行つた。試料の長さは 35 cm とした。

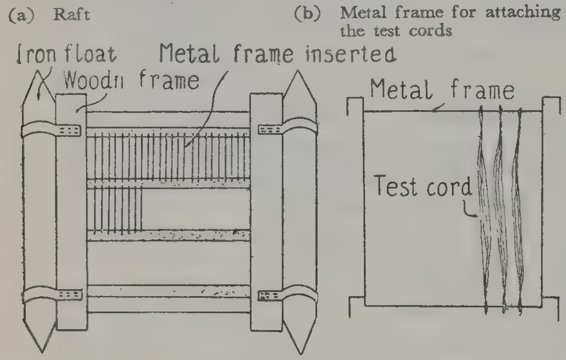


Fig. 1. Installation for immersion test.

6. 浸漬場所の水温及び網糸の風日乾回数

試験期間中に於ける浸漬場所の毎月の平均水温並びに A_2 B_2 群網糸の風乾或は日乾の回数を第2表に示す。

風日乾回数は総計 122 回で，その延日数は約 240 日であつた。したがつて A_2, B_2 群の各網糸は A_1 及び B_1 群の網糸より海水浸漬日数に於て 220 日少く，これは，これまでの試験期間の総浸漬日数の約 1/2 に当る。

Table 2. Average water temperature by month at the field and number of times for immersing and drying of the cords, during the test period.

年 Year	1952				1953											
月 Month	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
平均水温 °C Average water temperature	25	22	20	18	17	13	13	15	18	21	23	25	25	21	20	17
風日乾回数 Number of times fo drying and immersing	7	8	8	7	8	9	8	8	7	8	7	9	7	7	7	7

7. 抗張力並びに破断伸度の測定結果

海水浸漬 30 日乃至 45 日毎に筏からとりあげた網糸の抗張力並びに破断伸度の測定値と，その測定時の室温を第2及び3図に示す。第2図は A_1 群網糸の結果であり，第3図は A_2 群の結果である。B_1 群及び B_2 群の網糸については目下取纏め中である。B_1 群及び B_2 群の網糸の中，綿糸，マニラ麻，ラミーのみを比較のために第2及び3図にそれぞれ記入した。測定時の水温と室温の差は ±2°C 以内であつた。

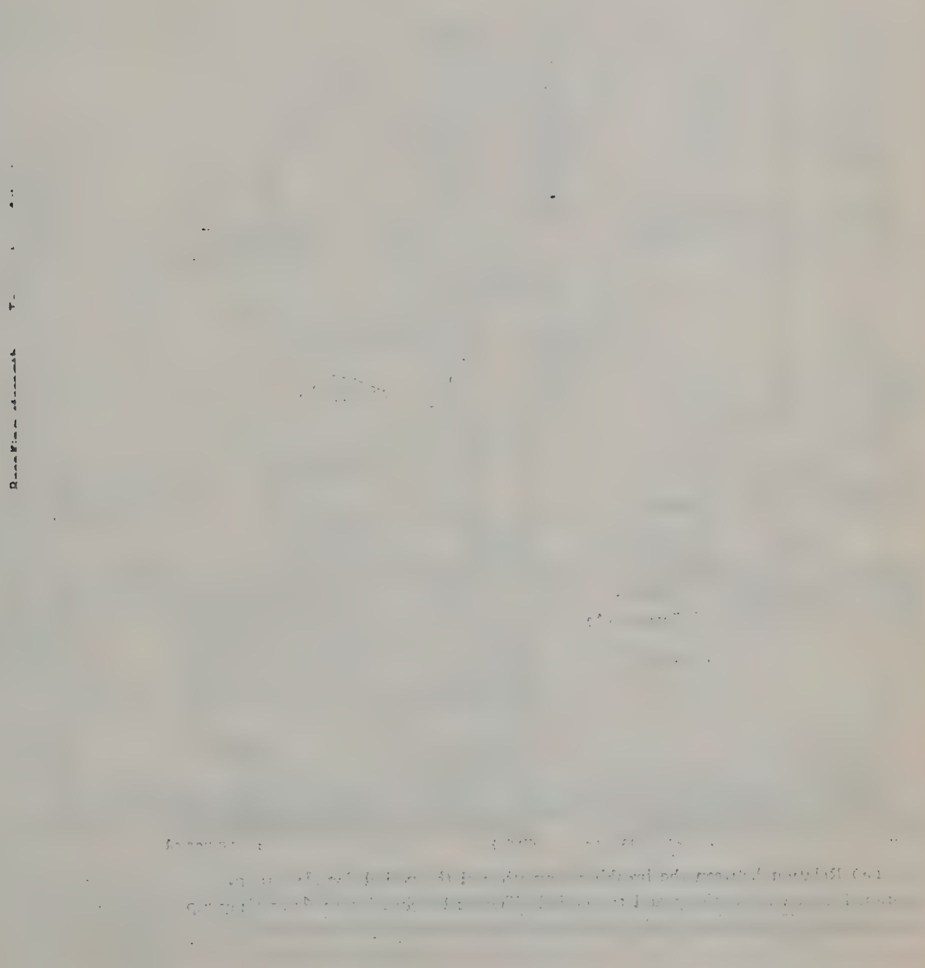
Ⅲ 実 験 結 果

第2図の天然繊維網糸は何れも，初めの2ヶ月の間にその抗張力及び破断伸度を殆ど失つてしまつたが，第3図の A_2 の各網糸は，未だ相当に耐久力を保つことを示している。尚，B 群の網糸については第2報に詳しく述べる積りであるが，第 2，第3図にみられる如く，綿糸 B_1, B_2 は非常に良好な成績を示し，海水浸漬後 460 日の経過後も，強さの減じる様子がないことは注目すべきである。

合成繊維網糸は，A_1，A_2 群共に冬期に抗張力の山が現われ，それ以後は次第に減少して夏期には谷を生じ，秋から冬に向うと共に再び増大してゆく，という変化をたどる。破断伸度は之とは逆に，冬期に減少して谷をつくり，夏期には増大して山を生ずるという傾向がみられる。そこで第 2，3 図に抗張力及び破断伸度測定時の室温を記入すると，その温度の高低と網糸の抗張力並びに破断伸度の変化との間には，互いに関連のあることが推察される。

1. 合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度と温度との関係

前述のように，合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度は，測定時の温度の高低と関連のあることが推察さ



strength and temperature of the cords at Exp. I.

and temperature of the cords at Exp. II.

且つ自記装置により応力一歪曲線を記録した。浸漬場所から送附されて来た網糸は約一週間清水中に浸し，湿潤状態で測定を行つた。試料の長さは 35 cm とした。

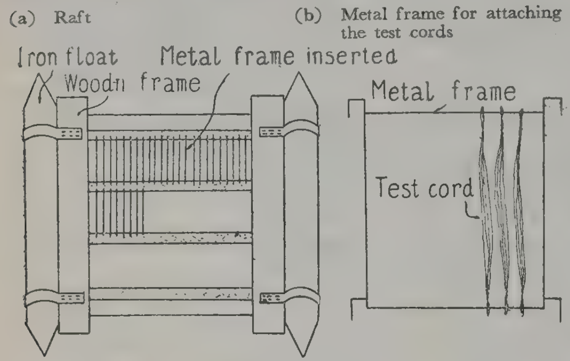


Fig. 1. Installation for immersion test.

6. 浸漬場所の水温及び網糸の風日乾回数

試験期間中に於ける浸漬場所の毎月の平均水温並びに A_2, B_2 群網糸の風乾或は日乾の回数を第2表に示す。

風日乾回数は総計 122 回で，その延日数は約 240 日であつた。したがつて A_2, B_2 群の各網糸は A_1 及び B_1 群の網糸より海水浸漬日数に於て 220 日少く，これは，これまでの試験期間の総浸漬日数の約 1/2 に当る。

Table 2. Average water temperature by month at the field and number of times for immersing and drying of the cords, during the test period.

年 Year / 月 Month	1952 9	10	11	12	1953 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
平均水温 °C Average water temperature	25	22	20	18	17	13	13	15	18	21	23	25	25	21	20	17
風日乾回数 Number of times fo drying and immersing	7	8	8	7	8	9	8	8	7	8	7	9	7	7	7	7

7. 抗張力並びに破断伸度の測定結果

海水浸漬 30 日乃至 45 日毎に筏からとりあげた網糸の抗張力並びに破断伸度の測定値と，その測定時の室温を第2及び3図に示す。第2図は A_1 群網糸の結果であり，第3図は A_2 群の結果である。B_1 群及び B_2 群の網糸については目下取纒め中である。B_1 群及び B_2 群の網糸の中，綿糸，マニラ麻，ラミーのみを比較のために第2及び3図にそれぞれ記入した。測定時の水温と室温の差は ±2°C 以内であつた。

Ⅲ 実 験 結 果

第2図の天然繊維網糸は何れも，初めの2ケ月の間にその抗張力及び破断伸度を殆ど失つてしまつたが，第3図の A_2 の各網糸は，未だ相当に耐久力を保つことを示している。尚，B 群の網糸については第2報に詳しく述べる積りであるが，第 2，第3図にみられる如く，綿糸 B_1, B_2 は非常に良好な成績を示し，海水浸漬後 460 日の経過後も，強さの減じる様子がないことは注目すべきである。

合成繊維網糸は，A_1，A_2 群共に冬期に抗張力の山が現われ，それ以後は次第に減少して夏期には谷を生じ，秋から冬に向うと共に再び増大してゆく，という変化をたどる。破断伸度は之とは逆に，冬期に減少して谷をつくり，夏期には増大して山を生ずるという傾向がみられる。そこで第 2，3 図に抗張力及び破断伸度測定時の室温を記入すると，その温度の高低と網糸の抗張力並びに破断伸度の変化との間には，互いに関連のあることが推察される。

1. 合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度と温度との関係

前述のように，合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度は，測定時の温度の高低と関連のあることが推察さ

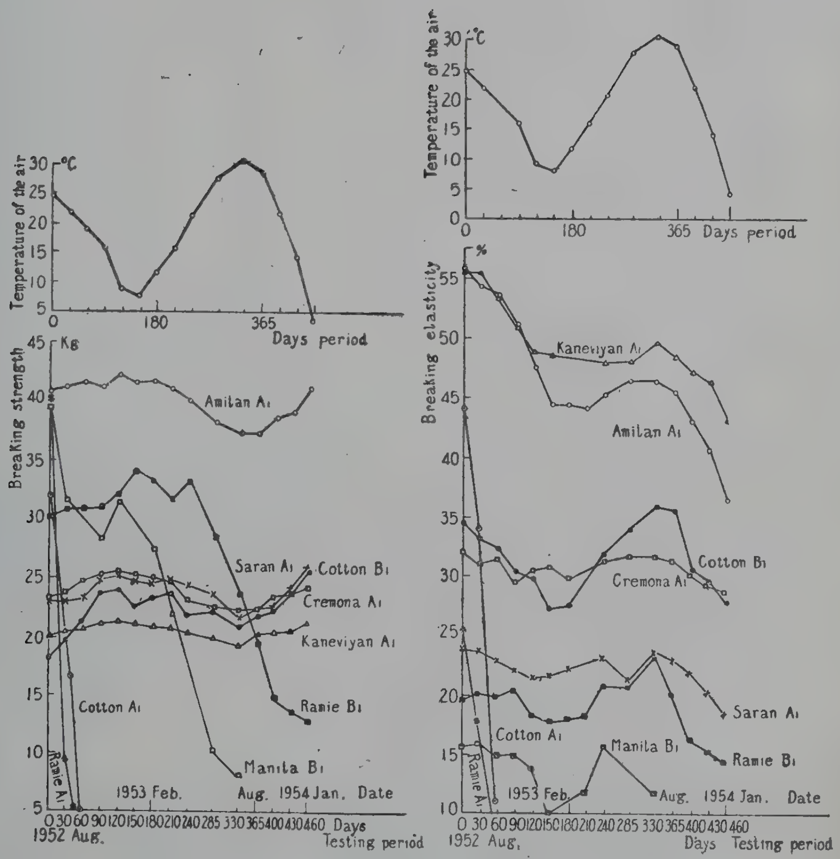


Fig. 2. (**a**) Relation between the breaking strength at testing temperature and the immersing period of the cords of A_1 group and some of B_1 group. (**b**) Relation between the elasticity and the period. The cords belonging to A_1 and B_1 group were treated as stated in the synopsis and immersed throughout the test period.

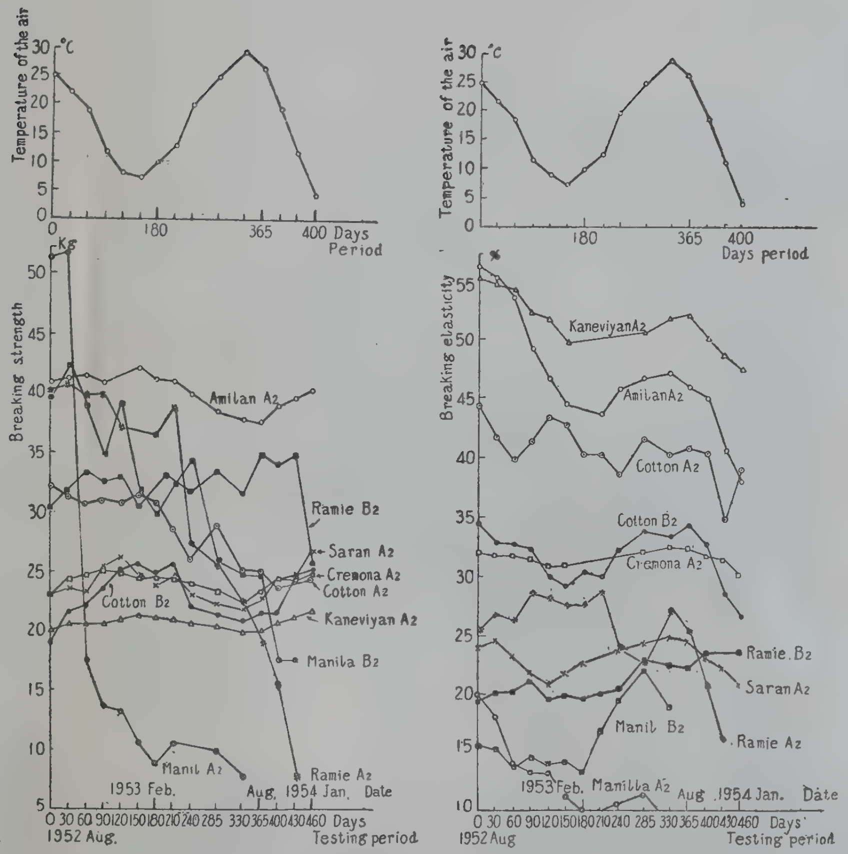


Fig. 3. (**a**) Relation between the breaking strength and the period for A_2 group. (**b**) Relation between the elsticity and the period. The cords belonging to A_2 or B_2 group dyed as described in the synopsis were soaked and dried at two day intervals.

れる。また一方，之等の合成繊維を空気中に放置するときは，aging その他の原因により，抗張力或は破断伸度に変化を来すことも考えられる[3]。そこで抗張力並びに破断伸度と測定時の温度との関係を求めるための実験を，同じ母集団に属する網糸につき，約 2.5 年の時間を隔てゝ同じ方法によつて行つた。即ち，第Ⅰ回は 1951 年8月に，第Ⅱ回は 1954 年2月に行つた。

a） 供試糸

この実験に供した合成繊維網糸は，次表に示す3種の網糸である。

Table 3. Specifications of the cords for the laboratory tests.

網糸の品名 Name of cords	網糸の太さ Construction and Thickness of the test-cords*	熱処理 Heat treatment	撚数（10 cm 当り） Number of twist per 10 centimeter	
			上撚数 For cord	下撚数 For strand
アミラン Amilan	250 デニール，3子，24本 250 denier, 3 strands, 24 yarns	処理済 Treated	51	84
クレモナ Cremona	20 番手，3子，24本 20 hank, 3 strands, 24 yarns	無処理 Untreated	36	105
カネビヤン Kaneviyan	20 番手，3子，24本 20 hank, 3 strands, 24 yarns	無処理 Untreated	51	135

* See footnote of table 1 for the construction.

b） 実験方法

密閉した実験室内に蒸気を入れ，室温を所定の温度まで上げる。この室内には予め，清水中に 48 時間浸した供試糸を入れておき，その容器の水温が所定の温度になつたとき，夫々の網糸の抗張力及び破断伸度を測定した。低温時の測定は日出前の低温多湿な時に行つた。この様にした結果，実験室の関係湿度は常に 90 %以上を保つことが出来たので，抗張力並びに破断伸度測定時の網糸の温度は，略ゞ室温に等しいものと看做した。

c） 実験Ⅰ及び実験Ⅱの結果とその考察

実験Ⅰ及びⅡによつて得られた結果を図示すると，第4図及び5図の如くなる。これより合成繊維網糸の抗張力は温度の上昇に伴つて減少し，破断伸度は之と反対に温度と共に増大することが明かになつた。

又，実験ⅠとⅡとの結果を比較してみると，これ等の合成繊維網糸は，空気中に放置することにより，時と共に若干ではあるが，抗張力並びに破断伸度に減少があることも明かである。且つこの実験の温度範囲では，実験Ⅰ及びⅡの何れに於ても，又何れの種類の網糸についても，抗張力並びに破断伸度は測定時の網糸

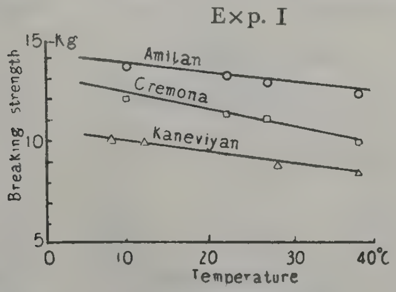


Fig. 4 (a) Relation between breaking strength and temperature of the cords at Exp. Ⅰ.

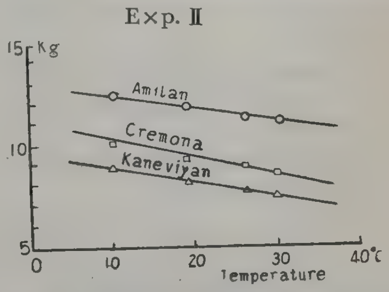


Fig. 5 (a) Relation betwen breaking strength and temperature of the cords at Exp. Ⅱ.

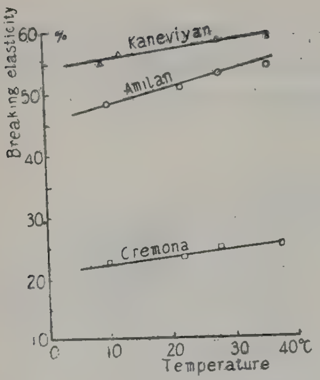


Fig. 4 (b) Relation between breaking elasticity and temperature of the cords at Exp. I.

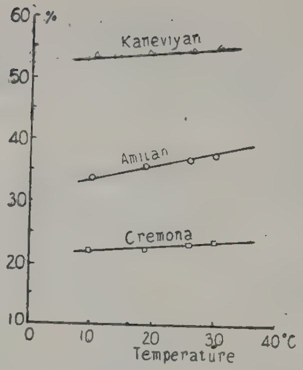


Fig. 5 (b) Relation between elasticity and temperature of the cords at Exp. Ⅱ. Exp. Ⅱ were undertaken 2 years anp half after Exp. I.

の温度と直線関係にあるとみることが出来る。

従つて抗張力を S，破断伸度を E，温度を θ とすれば

$$S=a+b\theta \quad (1)$$

$$E=a'+b'\theta \quad (2)$$

とおくことが出来る。

第4図及び5図の実験結果から，最小自乗法により a, b, 及び a', b' の値を求めて第4表を得た。これは唯2回だけの実験であるから厳密には言えないが，第4表にみられる通り，各合成繊維網糸の a, b 及び a', b' の値は実験IとⅡとでは個々に異るが，アミランに於て若干の相違がみられる外 b/a 並びに b'/a' の値は殆ど変つていない。

Table 4. Value of a, b, a', b', b/a and b'/a' gained by means of Exp. I and Ⅱ.

実験 Exp. / Value of a, b, a', b' etc. / 網糸の名 Name of cords	実験I. Exp. I			実験Ⅱ. Exp. Ⅱ			実験I. Exp. I			実験Ⅱ. Exp. Ⅱ		
	kg a	kg b	b/a	kg a	kg b	b/a	% a'	% b'	b'/a'	% a'	% b'	b/a
アミラン Amilan	14.4	−.056	−.0039	13.1	−.055	−.0042	45.3	+.280	.0062	31.8	.210	.0066
クレモナ Cremona	11.5	−.063	−.0057	10.7	−.062	−.0058	21.8	+.097	.0045	21.3	.098	.0046
カネビヤン Kaneviyan	10.1	−.061	−.0060	9.5	−.058	−.0061	52.3	+.094	.0018	52.7	.096	.0018

仍て b/a, b'/a' の値は放置時間に関係なく一定であると看做し，$b/a=m$, $b'/a'=n$ とおくと，(1) 及び (2) 式は次の如く表わされる。

$$S=a(1+m\theta) \quad (3)$$

$$E=a'(1+n\theta) \quad (4)$$

上式の a 及び a' はそれぞれ放置時間によつて変化をうける項であり，従つて $a=f_{(t)}$ $a'=\varphi_{(t)}$ なる時間の函数である。m 及び n は各種の合成繊維網糸につき，その太さや撚数の相違等によつて異る値であるかも知れない。これについては，今後実験によつて確める積りである。

2. 海水中に浸漬された合成繊維網糸の抗張力並びに破断伸度の変化

第2及び第3図に示した抗張力と破断伸度は，それぞれの浸漬並びに浸漬風日乾繰返しの累計日数 t に於ける測定温度 θ のときの実測値であつて，浸漬時間及び測定時の温度差の両者の影響をうけた値を示すものである。

今，合成繊維網糸を海水中に浸漬した場合にも，(3) 及び (4) 式を適用し得るものと見做し，浸漬開始の時，即ち $t=0$ のとき温度 θ に於ての抗張力を $S_{\theta 0}$，そのときの a を a_0，b を b_0 とする。又試験経過日数 t に於て，測定温度 θ なるときの抗張力を $S_{\theta t}$ とすると，(3) 式により

$$S_{\theta t}=a+b\theta=a(1+m\theta) \qquad (5)$$

$$S_{\theta 0}=a_0+b_0\theta=a_0(1+m\theta) \qquad (6)$$

但し $b_0=ma_0$

と表わすことが出来る故，

$$\frac{S_{\theta t}}{S_{\theta 0}}=\frac{a}{a_0}=\frac{f(t)}{a_0} \qquad (7)$$

となり $S_{\theta t}/S_{\theta 0}$ は温度に関係のない時間の函数となり，これによつて，測定時の温度の違いによる相違を除去した抗張力の，浸漬時間或は浸漬風乾時間の経過に伴つておこる変化を知ることが出来る。

破断伸度についても同様に，浸漬開始時の a' の値を a_0'，b' の値を b_0'，$b_0'=na'_0$ として

$$E_{\theta t}=a'+b'\theta=a'(1+n\theta) \qquad (8)$$

$$E_{\theta 0}=a_0'+b'\theta=a_0'(1+n\theta) \qquad (9)$$

$$\frac{E_{\theta t}}{E_{\theta 0}}=\frac{a'}{a_0'}=\frac{\varphi(t)}{a_0'} \qquad (10)$$

b/a，b'/a' の値は，その撚数や太さ等によつて異るとも考えられる。第1表の各合成繊維網糸につき $t=0$ に於ける $S_{\theta 0}$ 並びに $E_{\theta 0}$ と温度との関係を実験によつて求め（第6図），これより a_0，b_0 並びに a_0'，b_0' を第5表の如く算出した。

この実験は7項の実験の場合と同様に自然な環境の実験室で行つた。その時の室内の関係湿度は 75～93 %であつた。

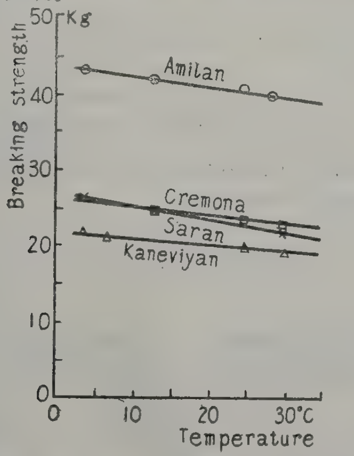


Fig. 6 (a) Relation between the breaking strength and the temperature of the same cords as immersed in the sea.

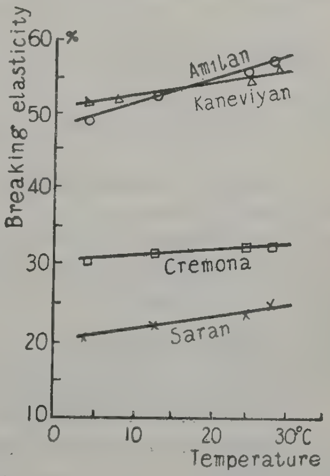


Fig. 6 (b) Relation between the elasticity and the temperature of the same cords as immersed in the sea.

Tablg 5. Value of a_0, b_0, a_0' and b_0' on $t=0$ of the same cords as immersed in the sea.

網糸の名 Name of the cords / Value of a_0, b_0, a_0', b_0',	アミラン Amilan	クレモナ Cremona	パネリヤン Kaneviyan	サラン Sarane
a_0 kg	44.1	26.8	21.8	27.0
b_0 kg	−.147	−.143	−.070	−.171
a_0' %	47.9	30.6	51.6	20.0
b_0' %	+.348	+.060	+.161	+.174

第5表の a_0, b_0 並びに a_0', b_0' を用いて，第2図及び第3図に示した浸漬実験の測定値 $S_{\theta t}$ 並びに $E_{\theta t}$ に対応する $S_{\theta 0}$ 及び $E_{\theta 0}$ を求め，これから $S_{\theta t}/S_{\theta 0}$ 及び $E_{\theta t}/E_{\theta 0}$ を計算して，浸漬日数との関係を図示すれば，第7及び8図の如くである。図中実線は A_1 群の網糸を表わし，点線は A_2 群の網糸を表わす。

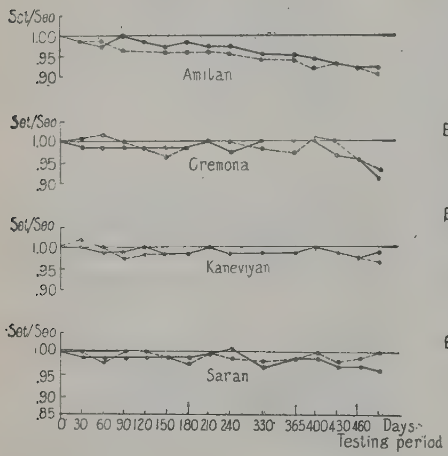


Fig. 7. Change in the breaking strength occurred during the testing period.

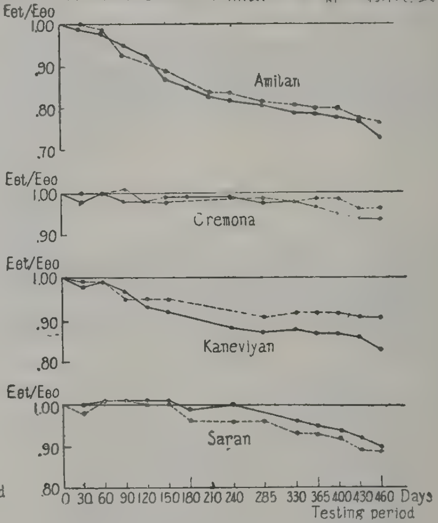


Fig. 8. Change in the elasticity occurred during the testing period.

Where, $S_{\theta t}/S_{\theta 0}$=Ratio of the breaking strength, at θ°C, of the cord which has been immersed for t days to that of the same cosd at $t=0$ and θ°C. $E_{\theta t}/E_{\theta 0}$ is shown following the case of $S_{\theta t}$ $S_{\theta 0}$.

b） **結果**

第7図から合成繊維網糸の抗張力の変化をみると，16ケ月間の海水浸漬中にアミランは漸次抗張力を減じ，クレモナは13ケ月目項より抗張力の減少がおこり，共に9％の減少を示している。これに比し，カネビヤン及びサランの抗張力の減少は僅少である。

A_2 群の網糸の浸漬日数は A_1 群の網糸の浸漬日数の約 1/2 であるが，A_1 群と A_2 群の網糸の間の抗張力の差は未だ認め難い。

破断伸度の変化は抗張力の変化に較べて可成り大きく，この期間中にアミラン，カネビヤン，サラン，クレモナの減少は夫々，25％，20％，10％，5％であつて，クレモナの減少が最も少い。クレモナとアミラ

ンの破断伸度の減少のしかたは，それぞれ抗張力の減少のしかたと類似しているが，サランとカネビヤンとは，それ等の抗張力の減少が僅少であるにも拘らず可成り大きいことは注目すべきである。

A_1 群と A_2 群の間の減少の相異はカネビヤンに大きく，サランを除き A_1 群の網糸の方が A_2 群の網糸の減少より大きい様である。これ等の相異は今後の試験の継続によつて明かにしたい。

終りに臨み，終始熱心に御指導を賜つた本所宮本科長をはじめ，屢々貴重な御忠言を戴いた高山部長，原稿の取纏めに有益な御助言をいたゞいた源生所長，コールタールの提供を賜り，且つその染付を指導して下さつた東京水産大学の本多先生等の各位に厚くお礼申し上げる。猶，現場を担当された真鶴試験地の平井政次氏の絶大な援助の労に対し，特に感謝の意を表する次第である。

Ⅳ 要　　約

1. アミラン，クレモナ，カネビヤン及びサランの4種の合成繊維網糸並びに綿糸，ラミー，マニラ麻の3種の天然繊維網糸につき，460 日に亘る海水浸漬試験を行い，その抗張力 S 及び破断伸度 E の変化の状況を比較した。

2. 合成繊維網糸の抗張力及び破断伸度の大きさは測定時の温度の高低と関係がある。これにつき，別にアミラン，クレモナ及びカネビヤンの網糸の抗張力 S，破断伸度 E と測定時の温度 θ との関係を求める実験を行い，

$$S=a+b\theta \qquad E=a'+b'\theta \qquad (3\leqq\theta\leqq 36)$$

なる実験式を得た。

3. 上記の合成繊維網糸は，大気中に長時間放置すると抗張力 S 及び破断伸度 E が変化し，上式の a, b 並びに a', b' の値は変化するが，2〜3 年の間では b/a 並びに b'/a' は略一定とみてよく，且つその場合にも，2. 項に示した実験式は成立する。

4. 大気中に放置した時間 t，測定温度 θ に於ける抗張力を $S_{\theta t}$ とし，放置時間 $t=0$ 測定温度 θ に於ける抗張力を $S_{\theta t}$ で表わせば，大気中に放置された合成繊維網糸の抗張力は，$b/a \fallingdotseq b_t/a_t=m$，($m$ は一定) であるから夫々

$$S_{\theta t}=a(1+m\theta), \qquad S_{\theta 0}=a_0(1+m\theta)$$

であり，その変化は

$$\frac{S_{\theta t}}{S_{\theta 0}}=\frac{a}{a_0}=\frac{f(t)}{a_0}$$

として温度に無関係に求めることが出来る。

破断伸度についても同様に

$$E_{\theta t}=a'(1+n\theta), \qquad E_{\theta 0}=a_0'(1+m\theta)$$

その変化は

$$\frac{E_{\theta t}}{E_{\theta 0}}=\frac{a'}{a_0'}=\frac{\varphi(t)}{a_0'}$$

5. 海水中に浸漬した網糸の場合にも，S，E と θ 並びに t との間に上と同様な関係があるものと考え浸漬試験に用いた網系につき，a_0, b_0 並びに a_0', b_0' を実験によつて求め，実測値を補正して得られた $S_{\theta t}$ 及び $E_{\theta t}$ と $S_{\theta 0}$ 及び $E_{\theta 0}$ の比 $S_{\theta t}/S_{\theta 0}$, $E_{\theta t}/E_{\theta 0}$ を計算し，之をこれ等網糸の海水浸漬中に於ける抗張力並びに破断伸度の変化として第7図及び8図に示した。

6. 綿糸，ラミー，マニラ麻の如き天然繊維の網系も，染付処理が適当に行われるならば，相当長期の間海水浸漬に耐えらることを確めた。

文　　献

1) 本多勝司；合成繊維漁細綱試験集録，研究資料第 26 号，1951
2) 土居正三；外,；合成繊維漁網綱試験集報，水産庁編，1950
3) 桜田一郎；“繊維の科学”三共出版株式会社　1951 pp. 166

水　産　化　学

CHEMISTRY OF AQUATIC PRODUCTS

魚介肉・蛋　白

Muscle Proteins of Aquatic Animals

放射能汚染魚

Radiologically Contaminated Fish

魚肉の坐りについて—IV. pH の影響

右田正男・岡田 稔
(東海区水産研究所)

Setting Phenomenon of Fish Muscle—IV. Influence of Hydrogen Ion Concentrations

Masao MIGITA and Minoru OKADA

Infuence of pH on setting phenomenon of fish meat has been studied, by using as the sample minced horse-mackerel meat mixd with half its own weight of water, pH being adjusted by adding KOH or HCl.

At pH 7.2—7.5 the sample meat begins to turn to a sticky paste and set even though no salt is added, and jelly strength (J.S.) passes through a slight maximum at pH 7.5—8.0; at pH 8.0—9.0 it does not set, but beyond 9.0 sets again.

In the acidic side of isoelectric point, the sample meat is dehydrated and coagulates. This may be due to the antagonistic action of acid and salt contained originally in the meat which renders meat proteins insoluble. Thus bleached meat forms a sticky paste and sets below 4.5, but the change in J.S. of set meat with pH, different from the case in alkaline side, is not here observed.

When salts added to the sample meat, influences due to nature and concentration of salts are apparent at pH 6.0—9.0. The Hofmeister series is observed in effectiveness of anions of salts in causing the meat to set at the salt concentrations of 0.3—0.5 mole similarly as in the case of meat of natural pH.

In general, under the conditions that favour to give an elastic jelly at pH 6.0—7.0, a rise in pH acts inhibitively on gelation of meat, thus J.S. goes through a minimum at pH 8.0—9.0. The influence of pH on the action of KSCN which makes the meat set into a friable jelly is not distinctly observed.

Salts of concentration of 0.1 mole cannot cause meat to turn to a sticky paste at a lower pH such as 6.0, but with increase in pH, they cause the meat to set, KSCN does at the lowest pH, followed by KNO_3 and KCl at the highest. At pH 8.0—9.0 all the salts cannot cause the meat to set.

At pH higher than 9.0 the influence of salts is not distinctly observed and the gel formed seems to be different in nature from those formed at lower pH, judging from the features and setting velocity etc.

These results can be interpreted in terms of the assumption as we have held that both the hydration of meat proteins and the formation of gel structure are essential factors of setting phenomenon of meat.

魚肉に食塩を加えて擂潰，放置しておくと特に加熱しなくても弾力のあるゼリーに変ることがありこの現象は坐りとして知られている。坐りの機作について我々は前報[1)2)3)]に於いて肉蛋白が水和されること及びゼ

1954 年 5 月 31 日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第 150 号

リーの骨骼構造が形成されることの必要があることを推論した。肉蛋白の水和は無機塩の存在によつて促進される（塩溶作用）ほか pH によつても著しく変化するすることはよく知られた事実であるが，これは pH によつて蛋白質の荷電状態が著しく変るためである。又蛋白の荷電状態が変れば蛋白の水和ばかりでなく反応性も大きな影響をうけることも知られている。即ち pH が変化すれば肉蛋白の水和性，ゼリーの骨骼構造形成能も著しく変り，ひいては坐りにも大きな影響が現れることは想像に難くない。本報では坐りに及ぼす pH の影響を調べ従来我々が坐りの機作について考えてきた仮設の当否を更に検討してみた。

実　　験

実験材料としては前回同様に細挫したマアジ精肉を用いた。試料肉の水分，蛋白は実験の都度特に測定する事なく，一応水分 75％，乾物を蛋白と見做して水分/蛋白＝3/1 と取扱つたこと，添加塩類の濃度は試料中の水分に完全に溶解したと考えた場合生ずべき塩溶液のモル濃度で表したことも前報と同様である。本実験では常に肉の重量の半分の水を加えて水分/蛋白＝5/1 にして実験を行い，この際添加する水の一部に酸又はアルカリ溶液を用いて pH の調節を行つた。**坐りの判定**は試薬を混和擂潰した後 20°C に1晩放置した試料について五官検査でその性状を見ると共に Jellometer で "破れの強度" を測つてゼリー強度（J・S）とした。尚 pH には硝子―カロメル電極 pH メーターを用いた。

実験　A.　　アルカリの影響

1）　塩類を添加しない場合

通常入手しうるアジ肉の pH は 6.5 附近である。これにKOH溶液を加えて pH を調節しアルカリのみによる坐りの影響をみた。(Fig 1)。pH 7.0～7.2 までは擂潰しても粘稠な肉糊が出来ず肉と水とは分離して坐りは起らない。7.2～7.5以上では粘稠な肉糊をつくり放置して置くと J・S は低いけれど弾力のあるゼリーをつくる様になるが8.0～9.0では放置しても坐らず粘稠な肉糊のまゝである。更に pH が高くなると（9.0 以上）肉は再び固化しその J・S は pH につれて高くなる。このため J.S-pH 曲線 (Fig1)には7.2～8.0 の小さな山と9以上の山及びその中間 8.0～9.0 に谷が認められる。7.2～8.0 で固化した肉は J.S は低いが KCl，KNO_3 等無機塩によつて坐つた肉と同様弾力がありしなやかなものであるが，9.0 以上で固化したものは白色で，弾力があるというよりも固い感じがつよく，強く押すとさけ易い。又固化速度が極めて早く 20 分以内で固化する（Fig. 5, F）等 pH 7.5 附近の坐りとはその様相が異つている。

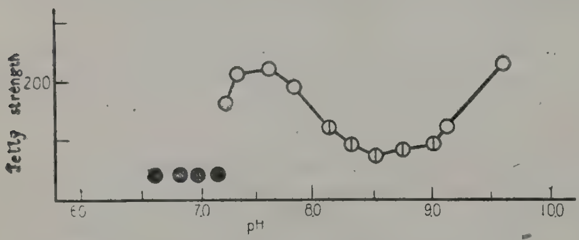


Fig 1.　Setting by KOH (without adding salt).
KOH による坐り（塩を添加しない場合）
○ jelly 坐り　　◐ sticky paste 粘稠な肉糊
● separation of water 脱水

Ⅱ）　塩類を添加した場合

添加する塩類としては前報で坐りに特徴のある影響を及ぼすことの認められた K_2SO_4，KCl，KNO_3，KSCN の4種を選び塩濃度を 0.1，0.3，0.5 M とし KOH で種々の pH に調節して塩によつて坐りに対する pH の影響がどう変るかをみた。pH 6.0～8.0 では塩の種類，濃度によつて坐りの様相は著しく異り，第2報でみたと同様坐りに及ぼす塩の影響に HOFMEISTER 順列（以下H順列）が認められる。一般に pH 6.0～7.0 で弾力のある坐りが起きた場合 pHが高くなると坐つた肉の J.S は次第に低下し特に pH8.0～9.0 では粘稠

な肉糊をつくつたまゝで坐らない場合が多い。pH 9.0 以上では実験に用いた凡ての塩で再び固化することが認められ，固化した肉の性状には塩の種類，濃度によるはつきりした差は認められずいずれも固い感じのもので弾力に乏しく強く押すとさけ易い。又固化速度の極めて早い等塩を添加しない場合とよく似ている。

従つて pH 6.0〜7.0 で正常の坐りを起す塩の場合には J.S-pH 曲線に 8.0〜9.0 で大きな谷が現れて特異的な形を示す。しかし pH 6.0〜7.0 で脆い坐りを起す KSCN 0.3, 0.5 M では pH が 9.0 まで上つてもその性状に殆んど変化は認められない。又 K_2SO_4 0.3,0.5 M でも 6.0〜9.0 で特に坐りが促進されることは認められず粘稠な肉糊のまゝである。即ち pH 6.0〜9.0 の間では中性塩による弾力のある坐りのみが pH の影響を著く受けることが判る。そこでこの範囲での中性塩による坐りを更に精しく検討してみた。

1. 塩濃度 0.1 M の場合 (Fig. 2)

pH 6 附近の低 pH ではどの塩も粘稠な肉糊を形成せず肉と水は分離してしまう。pH が高くなるにつれて粘稠な肉糊をつくり坐りを起す様になるが更に pH が高くなり 8.0〜9.0 では粘稠な肉糊をつくるだけで坐らなくなる。pH 7.5〜9.0 では塩の種類によってはつきりした差はないが pH 7.5 以下でははつきりした差が認められる。即ち数回の実験をまとめてみると第1表のようになる。

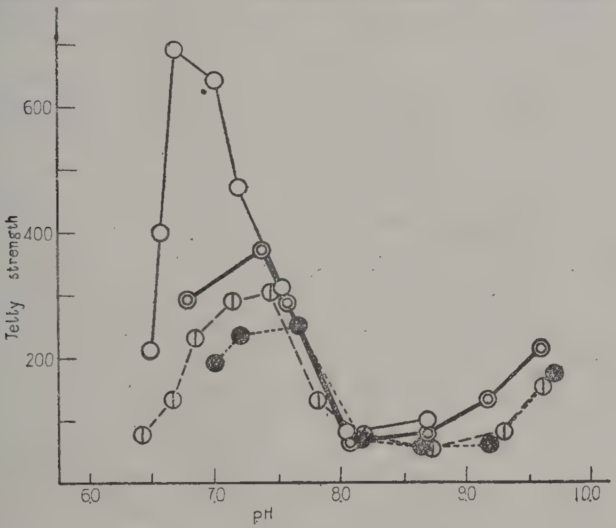


Fig 2. Setting by 0.1 M salts at various pH.
0.1 M 塩による坐り
○ CNS^-; ◎ NO_3^-; ● Cl^-; ⦶ SO_4^{--}

KSCN 及び K_2SO_4 は他の2者に較べて低 pH から粘稠な肉糊をつくり且 KSCN は極めて J.S の高い坐りを起し，しかも J.S の低下は比較的低 pH から起る。K_2SO_4以外では粘稠な肉糊をつくる pH は坐りの起る pH と大体同じであるが K_2SO_4 の場合は 6.3 附近から粘稠な肉糊をつくるが坐りは pH 6.8 附近から起る。K_2SO_4，KCl，KNO_3 では坐つた肉の J.S は KSCN 程高くなくまた J.S の低下し出す pH は略 7.5 で KSCN (7.0) に較べ高い。0.1 M という比較的低濃度の塩の存在に於いても粘稠な肉糊をつくる pH，坐り始める pH 等は SO_4^{--} を除けば Cl^-，NO_3^-，SCN^- の H 順列の順に後のものほど酸性側にずれている。

Table 1 0.1 M 塩による坐り

	SCN^-	NO_3^-	Cl^-	SO_4^{--}	塩を加えない場合
粘稠な肉糊をつくる pH	<6.5	<6.7〜6.8	<7.0〜7.1	<6.3	<7.2〜7.5
坐り始めの pH	6.5	6.7〜6.8	7.0〜7.1	6.8	7.2〜7.5
最高 J.S を示す pH	6.5〜7.0	7.3〜7.5	7.3〜7.5	7.0〜7.5	7.3〜7.6

2. 塩濃度 0.3, 0.5M の場合 (Fig. 3)

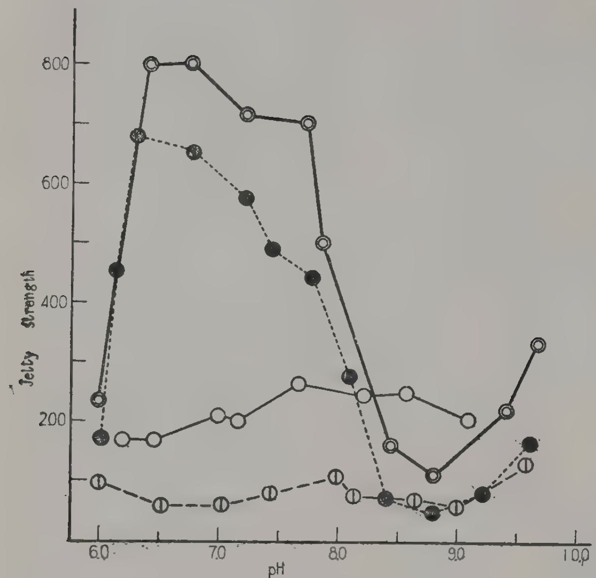


Fig 3. Setting by 0.5 M salts at various pH.
0.5 M 塩による坐り
○ CNS^- ; ◎ NO_3^- ; ● Cl^- ; ⌽ SO_4^{--}

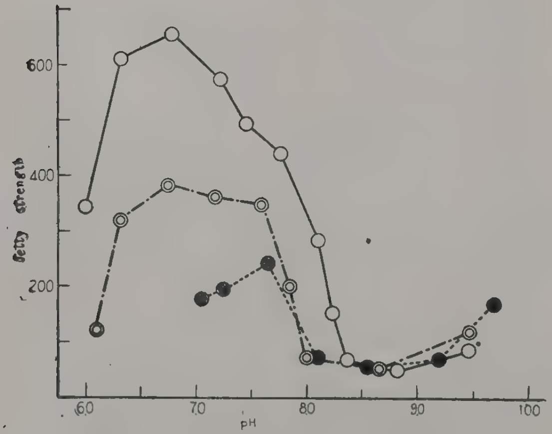


Fig 4. Setting by KCl at various pH.
KCl による坐り
● 0.1 M ; ◎ 0.3 M ; ○ 0.5 M ;

塩濃度が 0.3, 0.5M では塩濃度によつて坐つた肉の J.S に差があるが同一塩による坐りに対する pH の影響は略似ている。即ち KSCN では pH 6.0 附近から坐りを起すが坐つた肉は白色，脆いものである。pHが高くなつても坐つた肉の性状や J.S にはつきりした変化は認められない。一方 NO_3, Cl 塩では 6.0 附近から粘稠な肉糊を形成し弾力のある坐りが出来るが pH7.5以上になると坐つた肉の J.Sは pH と共に低下する。しかしこの J.S の低い肉は柔く弾力があるもので決して脆いものではない。8.0～9.0では粘稠又は坐りかけの状態となるが，NO_3^- 0.5M の場合のみは白色脆いものではあるが固化している。同一 pH，同一塩濃度では J.S は常に $NO_3^- > Cl^-$，又 J.S の低下する pH は NO_3 の方がやゝアルカリ性にずれている。又粘稠な肉糊，坐りを起す pH は塩濃度が高い程酸性にずれ0.5 M で 6.0, 0.3 M で 6.1 附近である。J.Sの低下の起る pH は特に Cl^- では 0.3 M より 0.5M の方が高い (Fig. 4)。 K_2SO_4 では 6.0 附近から粘稠な肉糊をつくるが放置しても坐らない。pHを6.0～9.0 に変化させても特に促進効果や阻害効果は認められず粘稠な肉糊又は坐りかけの状態である。

以上を要約すれば第 2 表の様になり，通常の肉の pH では弾力のある坐りを形成させる塩が存在しても 7.5～8.0 では J.S の面からみると坐りが阻害された

Table 2　0.3,0.5 M 塩による坐り

塩	濃度 (M)	性状 pH 6～7	性状 pH 8～9
KCNS	0.5 0.3	白色脆い坐り	白色脆い坐り
KNO_3	0.5 0.3	弾力ある坐り	白色脆い坐り 坐りかけ
KCl	0.5 0.3	弾力ある坐り	坐りかけ
K_2SO_4	0.5 0.3	粘稠な肉糊	坐りかけ

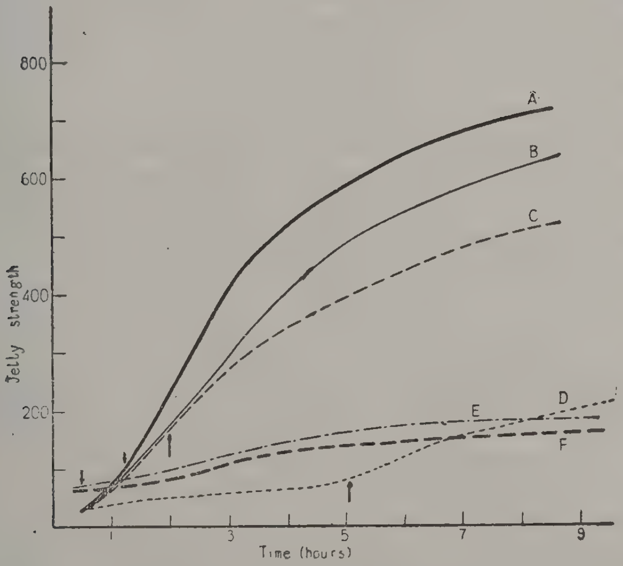


Fig 5.　Course of setting by 0.5 M KNO_3 at various pH.

0.5 M KNO_3 による坐りの時間的経過

A: pH 6.5; B: pH 7.3; C: pH 7.7; D: pH 8.1; E: pH 9.6; F: pH 9.5 (without added salt) 塩を添加せず.

The arrow shows the point where setting begins.

と判断される。尚 pH 6.0～8.0 では陰イオンの坐りを起す力には常にH順列が認められる。

Ⅲ　アルカリ側に於ける坐りの時間的経過

実験中 pH によつて坐りの速度が著しく異る事を屢々経験した。又 pH 7.5～8.0 で KCl, KNO_3 を加えて坐らせた肉の J.S は低いが，これは一度形成された J.S の高いゼリーが時間の経過と共にその J.S が低くなつたものか或は始めから J.S の低いものとして生成されたものかを知ることは坐りに対する pH の影響を解釈するのに極めて重要であると考えられる。そこで種々の条件で坐りの時間的経過をしらべた。その一部 KNO_3 0.5 M の場合を Fig. 5 に示す。

塩の添加の有無に拘らず pH 9 以上の高 pH では固化が極めて早く 30 分以内に起るが始めから J.S の低い坐りとして形成される。

塩の存在する場合 pH 7.5 以上でみられる J.S の低い坐りや 8.0～9.0 での粘稠な肉糊も決し有機変性剤による坐りのように一度形成された高い J.S のものが時間の経過と共に低下したのではない。このことは pH の上昇は J.S の高い坐りの形成を阻害することを示すものである。

坐りの起る迄の時間も KNO_3 では pH 6.5～9.0 では pH の上昇につれて長くなつているので生成速度から推しても坐りが阻害されるとも考えられるが，KCl 0.5 M では pH 7.5 附近（2～3時間）では却つて pH 6.5（3～5時間）よりも早く坐りが起き，更に pH が高くなり 8.5 附近では 24 時間でも坐らないことからみればこの場合 J.S の面から判断すれば pH の上昇は坐りを阻害するが生成速度からすればある程度の pH の上昇は却つて坐りを促進することになる。

実験 B. 酸の影響

HCl を用いて肉の pH を変えアルカリ性の場合と同様酸性側に於ける pH の坐りに及ぼす影響をしらべた。肉の pH を 6.0 以下にすると肉は白色に凝固し著しい脱水を起してしまい坐りは勿論粘稠な肉糊さえ生じない。アジ肉の等電帯は著者等の1人[4]の実験から pH 4.8~6.0 と推定されるからこの pH 域では肉の凝固の起ることは一応予想される所であるが，これより低い pH ではアルカリ側における pH の影響から類推すると粘稠な肉糊が出来，条件によつては坐りが起つてもいゝ筈である。しかし実際には pH 4.5以下でも肉は脱水凝固してしまう。

肉の主要成分である myosin は等電点 (pH 5.3) では水に不溶であるが之より酸性側では溶解する事，しかし酸性側でも塩が存在する時には溶解度が著しく減少することが知られている。[5] 又肉のイオン強度は 0.2 ~ 0.3 といわれ[6]かなりの塩が存在していると考えられている。本実験で肉を酸性にした場合脱水凝固が起きたのは肉蛋白特に myosin の酸性側の溶解度が肉中の塩の存在によつて減少した為ではあるまいか? 事実肉に添加する水を多くして水分/蛋白を 7/1 以上にすると pH 4.0 でも粘稠な肉糊をつくり凝固は起らない。又水晒し処理で肉中の塩を除いた場合にも pH 4.0 で脱水凝固は起らない。しかしこの pH 4.0 の水晒し肉に KCl を加えてゆくと添加 KCl がある量以上になると脱水凝固が起る。即ちアジ肉を酸性にした場合に脱水凝固が起るのは肉中に存在する塩のために肉蛋白 (myosin) が不溶となる為であり，従つてアルカリ性で行つた様に肉に直接酸を加えて pH の影響をみたり，塩の坐りに対する酸性側 pH の影響をみる事は不可能であることが判る。そこで水晒肉を用いて pH の影響のみを調べてみた。

細挫したアジ肉に 10 倍量の水を加えて攪拌放置して上澄液を除くことを3回繰返し最後に圧搾して水晒を行つた。かゝる操作によつて灰分，エキス分は何れも約1/3に減少する。* かゝる水晒肉を用い HCl で種種の pH に調節して pH と坐りの関係をみた。pH 6.0~4.5 では脱水凝固が起り坐りは勿論起らない。4.5 以下では粘稠な肉糊が出来るが塩やアルカリ側の場合のような柔い肉糊とは異り極めて腰のつよいものである。之を放置すれば固化するが実験した 4.5~2.0 の範囲ではアルカリ側でみられたような pH-J.S 曲線に凹な谷は認められない。酸性で坐つた肉は塩による坐りの場合ほど J.S は高くはないが柔く弾力のあるゼリーである。

尚 pH の調節に HCl の代りに種々の酸を用いたが，蛋白との反応に一塩基性酸として仂く HCl, HNO_3, H_3PO_4 は粘稠な肉糊をつくり坐りを起すが二塩基性酸として仂く H_2SO_4 は pH 4.5 以下でも脱水凝固を起し特異性を示す。かゝる H_2SO_4 の特異性はアジ肉の酸膨潤でも認められた。[4]

考 察

以上の実験結果を要約すると次のようになる。

1. 肉の pH を等電点よりアルカリ性にし且特に塩を加えない場合には，pH 7.2 附近より粘稠な肉糊をつくり坐りを起すが，8.0~9.0 では坐らなくなり，9.0 以上では再び固化する。

2. 等電点のアルカリ側で且特に塩を加えた場合には pH 6.0~8.0 では塩の種類・濃度による影響がはつきり認められるが，pH が高くなると 8.0~9.0 では坐りは阻害され，更に 9.0 以上になると再び固化するようになる。

3. 肉の pH を等電点より酸性にすると脱水凝固が起り坐りの現象は起らない。但し水晒した肉では pH 4.5~2 で J.S は低いが坐りを起す。

我々は前報までの幾つかの実験に於いて魚肉の坐りにも一般のゲル化の理論で考えられている様に蛋白の水和とゲルの骨骼構造の形成という2つの要因が必要である事を推論してきたが，本実験結果も特に pH 9 以下の場合にはこの考えに基いてよく説明される。

---

* 水晒操作によつて無機塩による肉の坐り易さは影響されない。

1. 水和の問題

坐りの起きた条件を検討すると粘稠な肉糊が形成された場合に限られており，経験的に粘稠な肉糊が形成されることが坐りの起る必要条件であると言える。粘稠な肉糊の形成ということは肉蛋白の溶解と密接な関係があり蛋白の溶解には蛋白の水和の増進が必要であることを考えれば坐りが出来るにも亦肉蛋白の水和の増進が必要とも言える。事実粘稠な肉糊の形成される条件を検討してみると肉蛋白の溶解度や膨潤性の増加が認められる場合に限られている。例えば著者等の1人[4]は肉蛋白の水和性をその膨潤性で表そうとしたが粘稠な肉糊が出来る様な条件は大体膨潤度 S*>40 であり，Sが 40 以下では粘稠な肉糊は出来ない。S<40 の条件をみると肉の等電点である pH 5.0~6.0，等電点以下の pH で塩の存在する場合，等電点以上では pH 7.2~7.5 まででかつ特に塩を加えない場合等でありこれらの条件で坐りの実験を行うといずれも水と肉とは分離して粘稠な肉糊は形成されない。又等電点のアルカリ側で塩を加えて粘稠な肉糊の出来る pH は KCl，KNO_3 0.1 M では pH 7.0 附近，0.3，0.5 M では各々 6.1，6.0 附近（Fig. 4）で一般に塩濃度が高くなる程等電点に近くなる。この関係は古く Bate-Smith[7] のみた myosin の溶解度即ち等電点に近づくにつれ myosin を溶解させるには高濃度の塩が必要であることと一致し，酸性に於ける肉の行動と合せ考えると粘稠な肉糊の形成と moysin の溶解性の間には密接な関係があることが判る。この様にある程度肉蛋白の水和が促進されることが粘稠な肉糊をつくるのに必要と考えられる。一方多数の実験を行つたが粘稠な肉糊が形成されないで坐りの起つたことは一度も経験されなかつた。従つて坐りが起るには肉蛋白の水和の増進が必要と考えられ，塩の存在しない場合や 0.1 M のような低塩濃度で pH が 7.0 以上になれば坐りが起るようになるのは肉蛋白の水和が pH の上昇によつて促進されたためと説明し得よう。

前報[3]で塩によつて肉蛋白の水和が促進されるにはイオンの静電気的吸着と界面化学的吸着の2種の機作があり，特に後者が重要であることを推論したがこのことは本実験結果からも支持される。0.1 M の塩が存在する時（Fig. 2），K_2SO_4, KCl, KNO_3, KSCN で粘稠な肉糊の出来る pH は各々 6.3，7.1，6.8，6.5 で K_2SO_4 を除けば Cl^-，NO_3，SCN^- の順に酸性側にずれている。即ち粘稠な肉糊の形成され方から判断すれば蛋白の水和は $Cl^- < NO_3^- < SCN^- < SO_4^{--}$ の順に促進されている。静電気的吸着による蛋白の水和は同一 pH ではイオン強度に比例して塩の種類による差は認められない筈であるから前記 0.1 M の濃度を用いた場合に粘稠な肉糊の形成に塩の種類の差の現れることは静電気的な水和では説明しえない。一方イオンの界面化学的吸着は電質濃度が高くなる**と静電気的吸着と重複して起り更に濃度が高くなるにつれ界面化学的吸着が支配的となりこのため種々膠質化学的現象に対する塩の影響にH順列が現れると考えられている。0.1M の各塩の中で K_2SO_4 が一番蛋白を水和させる力が強いのはこの場合イオン強度が 0.3 で他の塩（0.1）よりも大きいためと一応静電気的機作によつて解釈されるが，イオン強度の等しい塩で $Cl^- < NO_3^- < SCN^-$ の順に蛋白を水和させる力が大きいと判断されるのは陰イオンの界面化学的吸着による水和の増進を考えなければ説明しえない。前報で推論したように SCN^- は界面化学的に蛋白分子に吸着されやすいために蛋白を水和させる力が強く低い pH から粘稠な肉糊をつくるのであろう。即ち 0.1 M という比較的低濃度でも界面化学的吸着が蛋白の水和の促進に大きな役割を演じていることが窺えまして塩濃度が高くなれば蛋白の水和の増進には陰イオンの界面化学的吸着が強く関係してくることは容易に想像される所である。

2. 骨骼構造の問題

肉蛋白の溶解性からみれば同一塩，同一濃度では肉蛋白の水和は pH が高い程促進される筈であるから，pH 6.0~7.0 で J.S の高い坐りが形成されるのに 8.0~9.0 では却つて坐りが阻害されることは単に水和のみでは説明し難い。一般に弾力のあるゼリーには網状組織のようなゲルの骨骼構造が形成されておりこれ

* 肉と水の1：3の懸濁物を遠心分離した時の系の全容積に対する沈澱物の容量%をSで表す。肉蛋白が溶解する様な条件では S=100，等電点で不溶の場合では S=20~30.

** イオン強度 0.01~0.1 以上

が弾性の原因とされている[8]。坐りの場合にも何らかの骨骼構造の形成が必要であるという考え方を導入すればpH の上昇に伴う坐りの阻害を一応説明出来よう。即ち pH の上昇によつて坐りが起らないのは水和は促進されているが何らかの原因でゲルの骨骼構造の形成が阻害されたためではなかろうか。そしてこの原因として A．蛋白の荷電の変化。 B．骨骼構造形成に必要な特別な作用基の喪失。 C．蛋白のアルカリ変性等が考えられる。

A． 蛋白の荷電の変化

蛋白分子中の酸性基及び塩基性基は夫々 pH のある範囲内で特有の解離を起して蛋白分子に負及び正の電荷を持たせるようになる。この正負の電荷の量は蛋白中のアミノ酸残基の種類，含量，各残基の電離恒数によつて決まると考えられ，等電点では正電荷と負電荷が等しく蛋白分子全体としては荷電は0となる。 pH がアルカリ側にずれると塩基性アミノ酸残基の解離が抑えられ従つて蛋白分子全体としては負荷電をもつ様になる。このため同符号の荷電をもつ蛋白分子は互に反撥し合つて骨骼構造を形成し得る程近よれなくなるため坐りは阻害されると解釈する事が出来よう。併し肉蛋白の滴定曲線[4]をみると pH 7～9では大きな変化はみられないが 9～11 で急な変化が認められる。即ち蛋白の負荷電の増加は pH 9～11 で著しく，坐りの阻害が強く現れる pH 8～9ではそれ程大きくないと判断される。静電気的反撥に基く坐りの阻害は負電荷の増加に平行する筈であるから pH 6.0～9.0 では阻害は除々に現れ9以上で急激になると予想されるが実際には pH 7.5～8.0 で急激に起る事をみると単に蛋白の荷電の変化のみを阻害の原因とすることが出来ないように考えられる。

B． 骨骼構造形成に必要な特別な作用基の喪失

骨骼構造形成には蛋白中のある特定な作用基が必要でありこの作用基がなくなれば骨骼構造が形成されないとも考えられる。坐りの阻害される pH 7～8 はヒスチヂン残基のもつイミダゾール基の解離が完全に抑えられてしまう pH と一致する。此のことは坐りの骨骼構造の形成には解離したイミダゾール基の存在が必要な事を示唆しているとも考えられる。 fibrinogen の凝固の場合には凝固に対する pH の影響から未解離イミダゾール基の存在が必要なことを Ferry[7] が推論している。坐りの場合にも同様に特別な作用基の必要性も考えられるがこれを確めるには肉蛋白中のイミダゾール基の解離状態についての精しい知識が必要である。

C． 蛋白質の変性

蛋白質は等電点を中心とするある pH 範囲内では分子の内部構造には変化は生じないが，強アルカリ又は強酸性にすると変性が起り極端な場合にはアミノ酸にまで分解される。肉蛋白の主要成分である myosin 分子も pH が上昇し8～9附近になるとその性状に変化が起ることが知られている。坐りに関係している蛋白は溶解性，ゲル形成能等からして myosin であることが推測されるが，今迄我々が myosin とよんできた蛋白は正確には actomyosin と呼ぶべきもので actin と L-myosin とから出来ていることが最近の筋肉蛋白の研究から明かにされている[10]。 actomyosin が actin と L-myosin に解離すると actomyosin (所謂 myosin) の特性である流動複屈折 (SB) の消失とか粘度の低下その他の物理的性質の変化が起るがこの解離はイオン強度の高い(>1)時や ATP の様な特定化学試薬によつて起るが，又 pH の変化によつても起ることが知られ兎 myosin では pH>7.5 で起るという[11]。しかし Edsall 等[12] は SB の研究から兎 myosin では<9.7 では起らないが lobster myosin では 9.0 で起るとし又兎 myosin で SB，粘度の変化が>8.5 で起るという報告もある[13]。 myosin の種類，研究者によつて違いはあるが 7.5～9.5 で myosin の物理的性質にある種の変化が起ることは確かである。 かゝる pH の上昇による物理的性質の変化と骨骼構造形成能の喪失との間に何らかの関係があると考えられるが今の所想像の域を脱しえない。 myosin の SBの消失は種々無機塩によつても起り[12,13] SCN^- のように坐りを起す力の強いもの程 SB を消失せしめる力が強いことからすれば SB の消失から判断した myosin の物理的変化を直ちに骨骼構造形成能に関係づける

のは危険と考えられるからである。

以上の様に細かい所には不明の点が多いが pH 9.0 以下の坐りに対する pH の影響については水和と骨骼構造の形成という2つの要因に基いて一応の説明することが出来る。

しかし pH 9 以上で再び肉が固化する現象や坐りに対する塩の影響の機作等説明出来ないことが多い。特に pH 9 以上で再び固化する現象は全く説明に苦しむものである。pH 上昇に伴う坐りの阻害を骨骼構造が形成されなくなつたとして種々考察した前述の推論は凡て適用出来ず全く反対である。しかし pH 9 以上で固化したものの性状は pH 8 以下の場合とは全く異つていること，ゲル化の速度が極めて早いこと，塩の影響がはつきりしないこと等から考えると pH 9 以上の固化現象は pH 8 以下の場合とは全く異つた性質のものとして取扱うべきものかも知れないが現段階に於いては何とも論じられない。

又 pH 9.0 以下の場合についても同一 pH，同一塩濃度で塩の坐りを起す力にH順列が認められた機作について前報では主として陰イオンの界面化学的吸着に基く水和の増進力の差としたが，pH の影響を考えるとはつきりした解釈の出来ないところもある。例えば 0.3，0.5 Mという塩濃度では実験に用いた凡ての塩は粘稠な肉糊をつくるからこの点からすれば一応水和が促進されたと解釈されるのに坐りを起す力に H 順列が現れる。粘稠な肉糊をつくる様な水和と坐りを起すのに必要な水和との間に何らか差があり，坐りが起るためには例えば界面化学的吸着による水和のような特別な水和が必要なのであろうか。K_2SO_4 0.1 M では pH 6.3 から粘稠な肉糊をつくるが坐りは pH 6.8 附近から出来ることは坐りが起るには単に粘稠な肉糊をつくる水和と違つた特別な水和が必要なことを示唆しているとも考えられる。この様に坐りが起るには何らか特別な水和が必要であるとする考えを用いれば坐りに対する pH の影響を骨骼構造形成という要因を用いなくても水和のみで説明しうる様に思れるがかゝる特別な水和については今の所想像の域を脱しない。

一方界面化学的吸着による蛋白の水和を増進する力の強いと考えられる KSCN 0.3，0.5 M では脆いゼリーが形成されこの際には pH の影響がはつきりしないこと，pH による阻害が NO_3^- よりも Cl^- の方に強く現れること等は塩が単なる水和の増進の他に坐りの骨骼構造の形成にも関与している事を示唆しているように考えられる。例えば陰イオンは蛋白を変性させる力を持ちこの力にH順列があると考え*，又ある程度変性させられた蛋白分子は骨骼構造を形成するのに都合がよい性質をもつと仮定すると，SCN^- は変性作用が強すぎて蛋白分子はかえつて丈夫な骨骼構造をつくりえなくなつて脆い坐りが生成され，又骨骼構造形成作用が強ければ pH 上昇による阻害も受けにくくなるので NO_3^- の方が Cl^- よりも阻害され難いと考えられよう。かゝる仮定は今の所想像の域を脱しないがこのような陰イオンの骨骼構造形成を促進する一種の蛋白変性作用については今後更に考究するつもりである。

実験結果を更に細かに検討すると KCl，KNO_3 とも坐つた肉の性状からすれば pH の上昇は坐りを阻害すると判断されるが坐りの生成速度からすれば pH の上昇により KNO_3 では阻害されるが KCl では促進されるような結果が得られたこと，KSCN 0.1 M は KCl，NO_3 0.5 M に匹敵する J.S の高い坐りを pH 6.5 附近で形成するのに pH の上昇に伴う J.S の低下が後二者よりも急激に起ること等説明し難い事実が多い。

尚坐りに対する pH の影響に関して考えられることは myosin の thixotropic gel との関係である。EDSALL[15] によれば myosin の等電沈澱物は不透明なゼリーとしてかたまるがこれは thixotropic なゲルでこれに塩を加えれば溶解するが，塩を加えずに pH を上げると 6.5〜8.0 ではゲルの硬さをまし同時に透明になる。pH が更に高くなると逆に硬さを減じ pH 10 では溶解してしまう。本実験で特に塩を加えない場合には7.2〜8.0 及び 9.0 以上ではゲル化が起るが 8.0〜9.0 では粘稠な肉糊が形成される丈であつて純 myosin のゲル化とはその様相が著しく異つている。本実験では全肉を用いているので肉中のエキス，塩，

* 陰イオンが蛋白の尿素変性を促進する作用にはH順列の存在する事が知られ[14]，又 I^-，CNS^- は水素結合を切る力があるといわれる。

myosin 以外の蛋白の影響があるのかもしれない。

前報で無機塩の坐りに及ぼす影響を調べた際には特に pH を調節することなしに実験したが，その pH は 6.0～7.0 で本実験結果から推して塩濃度がある程度以上高ければこの範囲内での pH の変動は実験結果の解釈には重要な影響はないと判断される。但し 0.1 M という低濃度では pH の影響を考える必要があろう。KSCN 0.1 M で坐りが起きたり起きなかつたりしたのを経験したがこの塩のこの濃度で坐りの起るのは pH 6.5 以上であること，市販のアジ肉の pH は 6.5 附近であることを考えれば試料肉の pH 如何によつて坐りが起きたり起きなかつたりするのであろう。又炭酸塩で K，Na 塩は坐りを起すが NH_4 塩では坐りが起きなかつた[1]のは肉の pH がそれぞれ 9.7，9.7，8.8 であつた事及び本実験によつて pH が 7 以上の場合には pH の影響を考える必要のあることが明かにされたことからこれは pH の相異によるものと解釈される。

倘魚肉に酸を加える事は肉の凝固，脱水を起す故利用加工面での魚肉の取扱にあたつては一応注意すべき操作と考えられる。

摘　　要

1. マアジ肉を用いて坐りに対する pH の影響をみた。
2. 塩を加えない場合等電点よりもアルカリ性側では pH 7.2～7.5 から粘稠な肉糊をつくつて坐りを起す様になり，7.5 ～ 8.0 の間でゼリー強度は小さい山をこえる。pH 8.0～9.0 では坐らず 9.0 以上では再び坐るようになる。
3. 肉の pH を等電点より酸性にすると脱水凝固が起る。これは酸と肉中に存在している塩との拮抗作用により myosin が不溶性になるためと考えられる。水晒し肉では pH 4.5 以下で粘稠な肉糊をつくり坐りを起すがこの際にはアルカリ側にみられるような pH によるゼリー強度の変化は認められない。
4. pH 6.0～9.0 では坐りに対する塩の種類，濃度による影響がはつきりと認められる。0.3，0.5 M 塩濃度では自然の pH の肉の場合と同様陰イオンの坐りを起す力に H 順列が認められる。一般に 6.0～8.0 で弾力のある坐りを生ずる条件では pH の上昇につれて坐りは阻害され J.S-pH 曲線に 8.0～9.0 で谷が現れる。脆い坐りをつくる KSCN では pH の影響ははつきり認められない。

   0.1 M 塩濃度では 6.0 附近の低 pH では粘稠な肉糊もつくらないが pH が高くなると SCN^-，NO_3^-，Cl^- の順に坐りを起すようになるが pH 8.0～9.0 では再び坐らなくなる。
5. pH 9.0 以上では塩の存在の影響ははつきりせずゼリーの性状，生成速度等から低 pH での坐りとはちがつた性質のものと考えられる。
6. 以上実験結果を坐りに対する肉蛋白の水和と坐りの骨骼構造の形成の必要性から種々論議し従来我々が坐りについて考えて来た仮設の正当性を更に深めた。

文　　献

1) 石田正男・岡田　稔：日本水産学会誌，**18**，117 (1952).
2) 〃　：　〃　**18**，159 (1952).
3) 〃　：　〃　**19**，589 (1953).
4) 岡田　稔・多田節子：　〃　**19**，178 (1953).
5) J.T. Edsall：Advances in protein Chemistry Ⅲ，426 (1947).
6) M. Dubuisson：*Arch. int. Physiol.* **52**，439 (1942).
7) E.C. Smith：*J. Soc. Chem. Ind.* **1934**，351 T
8) 例えば 水島三郎：物理化学Ⅳ 1027 共立出版 (1949)，J.D. Ferry：Advances in Protein Chemistry Ⅳ，1 (1943).

9) J.D. FERRY: *J. Phys. Colloid. Chem.* **54**, 66 (1950).

10) 最近の綜説として H.H. WEBER & H. PORTZEHL: Advances in Protein Chemisty Ⅶ, 161 (1952).

11) H. PORTZEHL et al: *Z. Naturforsch.* 5b. 61 (1950).

12) J.T. EDASLL & J.W. MEHL: *J. Biol. Chem.* **133**, 409 (1940).

13) M. DAINTY et al: *J. Gen. Physiol.* **27**, 355 (1944).

14) N.F. BURK: *J. Phys. Chem.* **47**, 104 (1943).

15) J.T. EDSALL: *J. Biol. Chem.* **86**, 286 (1930).

魚肉の坐りについて—V. 坐りの判定及び比較の方法

梅本 滋*・岡田 稔**・右田正男**
(*東北海区水産研究所・**東海区水産研究所)

Setting Phenomenon of Fish Muscle—V. A Gradation Method of Setting Ability of Fish Meats

Sigeru UMEMOTO, Minoru OKADA and Masao MIGITA

Setting phenomenon of fish meat remarkably differs from species to species. We have often experienced the facts which suggest the possibility to pursure the biological characteristics of fish meat, that is, the variation according to species, sex, season and fishing ground etc. For this purpose, however, it is necessary to evaluate and compare exactly the characteristics of the set meat and setting ability of fish meat. As for the method, organoleptical tests can not be excluded because of the reason previously discussed.[2] A method for comparing the setting ability of fish meat mainly on the basis of sensory test has been established by examining various factors which exert influences on the setting phenomenon.

Materials

Concentration of the sample meat ; meat : water = 2 : 1

Added salts ; KSCN (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, moles); KNO_3 (0.5 mole);

KCl (0.5 mole); K_2SO_4 (0.5 mole)

Concentration of salt is expressed in moles of salt solutions resulting when the added salts are assumed to be dissolved completely in water in the meat paste.

Procedure

Eight different kinds of meat pastes are prepared by grinding the sample with each salt respectively and kept at 20°C for 15—20 hours. Then the grade of jellification is estimated organoleptically according to the scale (table 1) previously fixed, and on the other hand, jelly strength is determined by agelometer.

Evaluation

The jellification grade and jelly strength are plotted separately with the added salt as show nin Fig. 2. From the type of the two curves we can group setting ability of fish meat into three grades, namely strong, medium, and weak. In fish meat with strong setting ability a high peak is observed in the lower curve (jellification grade—added salt curve) and a minimum in the upper curve (jelly strength—added salt curve), while fish meat with weak setting ability gives low peak and no minimum in the diagram.

魚肉の坐り現象は魚種によつて著しく異ることが知られている[1]。又著者等の経験からすると，或る場合

1954 年7月 14 日受理 (印刷費負担)
東北海区水産研究所業績 第 38 号・東海区水産研究所業績 B 第 158 号

には坐りの面から魚肉の生物化学的特性（魚種・性別・季節等による）を追求することもできそうである。しかし，そのためにはまず，魚肉の坐りの特徴及び難易を確実に判定し，比較し得ることが必要である。然るに現在のところ，坐つた魚肉の本質を一義的に示し得るような物理的特性はわかつておらず，又たとえわかつたとしてもその測定は容易ではないであろう。一方簡単に測定し得るゼリー強度とか，押込みに対する抵抗等は坐り現象に伴つておこるある種の物理的性質の量的の変化を表わし得ても，その力学的意義ははつきりとせず，殊に坐りの質的の変化に対してはあまり役立たない。むしろ官能的判定によると，この質的の変化を定性的ながらある程度区別し得ることは既に前報[2]で指摘したとうりである。従つて一般の実験室において簡単でしかも効果的な坐りの判定及び比較の方法としては，現段階では官能的判定を主とし，その補助の意味で物理的測定を併用した方がよいと考えた。官能的判定を主とすれば，種々の魚をそれぞれの産地で容易にしらべることができ，このことは坐りの面から魚肉の生物化学的特性をみようとする場合に甚だ好都合である。但し，主観的な官能検査を主とするのであるから，判定の結果が常に再現性をもつように，又できるだけ細い差異を比較し得るように官能的判定の基準として予め「坐りの尺度」を定めておくと共に，実験条件の吟味が必要である。実際問題としては官能的判定の尺度はかなりの幅をもつたものになりやすいので特に判定の精度を高める工夫が重要である。そのために適当な物理的性質の測定を併用すると共に，添加塩の種類と濃度とを適当に変えたそれぞれの場合を比較することを試みた。特に塩類の条件を色々に変えた場合の比較を加えたのは，添加塩の坐りに及ぼす著しい影響は，塩類と肉蛋白との相互反応に起因するとの考えにもとずいたものである。

本報は以上の方針に基き，各種の魚肉の坐りを比較する場合の比較的望ましい条件を決定すると共に，判定の結果の表現方法を考案したものである。

実　　験

1. 測定条件の吟味

魚肉濃度　魚肉をそのまま用いるよりも，適度の水を加えたものを用いると塩類が魚肉の坐りに及ぼす影響，特に肉の水和状態の微妙な差を見易くする。加える水の量は第2報の実験[2]から大体肉の半量が適当である。即ち魚肉濃度は魚肉：水＝2：1 とする。

添加塩の種類及び濃度　ここで添加塩の濃度は肉糊中に含まれている水 37.5cc（魚肉の水分含量を便宜的に 75% と仮定し，魚肉 30g に水を 15cc 添加したときの肉糊中の水の量）に，加えた塩が溶解したと考えたときに生ずる塩溶液のモル濃度で示す。

坐りをおこさせる塩類は多いが[3]，その反応をやゝ詳しく調べられているものは K_2SO_4，KCl，KNO_3，

Table 1. Grade of jellification of fish meat　坐りの程度

Grade 等級	Formation and appearance 外観	
0	粘性を生ぜず，水を遊離	No change, not sticky, lustreless and rosy
1	粘稠な肉糊，つやのある肉色	Sticky paste, lustrous and rosy
2	粘稠性残るも，坐りかけ，つやのある肉色	Begun to get rid of adhesiveness, slightly jellified, lustrous and rosy
3	坐り，つやのある肉色	Jelly, lustrous and rosy
4	坐り，弾力が強い，つやのある肉色	Jelly with high elasticity, lustrous and rosy
5	坐り．弾力が強い，つやのある白色	Jelly with high elasticity, lustrous and whitish
6	坐り，やゝ脆い，つやのない白色	Jelly with brittle structure, lustreless and whitsh
7	坐り，脆い，つやのない白色	Jelly easily crushable, lustreless and whitish

KI，KSCN の5種である[2]。このうち K_2SO_4 を除く各塩は，その濃度と魚肉の坐り易さの程度に応じてかなり等級のちがつた坐り（第1表参照）をおこさせる。それ故，添加塩としてはどの塩を用いてもさしつかえないが，KSCN は特に坐りをおこさせる力が強く，0.1～0.5M の範囲でその濃度に応じて，坐り易いアジ肉に対しては3級から7級の坐りを，アジ肉よりも坐りにくい魚肉に対しては0級から4級位の坐りをおこさせる。従つて 0.1～0.5M の比較的低濃度で最も広い範囲の坐りをおこさせる点で代表的な塩としては KSCN をえらぶことにした。

又 K_2SO_4 は極めて坐りをおこしにくい塩であつて，坐り易いアジ肉の場合，肉：水＝2：1 だと 0.5M ではただ粘稠な肉糊をつくるだけで坐りをおこさない。従つて，もしアジ肉よりも坐り易いものがあり，KSCN ではおこしている坐りの程度が区別できないものが，K_2SO_4（0.5M）で区別できる可能性もあると考え，K_2SO_4 も添加塩にえらんだ。

更に坐りの現象に関して陰イオンの間に HOFMEISTER 順列のみられること[3]は陰イオンと蛋白との間のある種の反応が坐りの生成に重要な役をしていると考えられる。従つて，もし試料とした魚肉中の蛋白質が特にある種のイオンに親和力をもつような場合は，その塩の存在の下では坐りの現象に何か特徴がみられるわけである。このために KCl，KNO_3 をも添加塩の中に加えることは無駄ではないだろう。但しこの場合，各塩の濃度は何れも典型的な坐りの現われる 0.5M をえらんだ。

静置時間及び温度　アジ肉（肉：水＝2：1）に0.2M の濃度になるように KSCN を加えてすりつぶし 30°C に静置してゼリー強度（以下J.S.と略記する）の時間的変化をみると弾力のある正常の坐りをおこし，J.S. が一定になるまでに3時間を要している[2]。温度が低ければこの時間はもつと長くなると考えられる。然るに実際の場合を考えると，実験開始から肉糊の調製を終るまでにはかなりの時間を必要とする場合も多いので，坐りの測定は翌日（肉糊の調製後 10～20 時間）に行うようにした方が便利である。この条件にあうような静置温度を決定するために，静置温度による J.S. の時間的変化をしらべた。アジ肉を用い，魚肉濃度＝2：1，KSCN（0.2M，0,5M），KNO_3（0.5M），KCl（0.5 M）の添加塩の条件で調整された肉糊をそれぞれ 10°，20°，30°C に静置したときの J.S. の時間的変化をみたところ，第1図に示すような結果をえた。即ち，肉糊を 20°C に静置すると約 10 時間で坐りは完了し，その状態が 10～20 時間保たれている。一方 10°C では 20 時間後でも坐りの進行は完全でなく，30°C では5時間で坐るが 15～20 時間では J.S. が塩の種類によつて明らかに不同となつている。従つて，静置を 20°C とした。

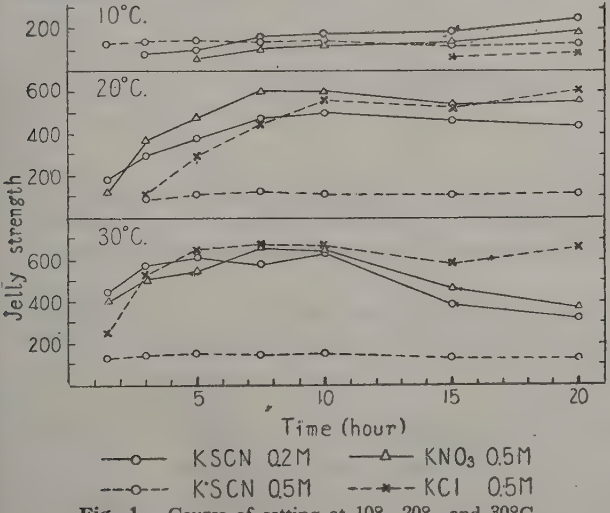


Fig. 1. Course of setting at 10°, 20°, and 30°C. (Horse mackerel meat, Fish meat : Water=2:1)
静置温度(10°,20°,30°C)によるゼリー強度の時間的変化

尚静置時間が長いため，実験中に肉糊の鮮度が著しく低下する懸念のあるときは，肉に添加する水の代りに濃度1万分の 1 のフラスキン水溶液を用いたところ，鮮度の著しい低下をある程度までは防止できた。この場合フラスキンが坐りに及ぼす影響は認められなかつた。

Table 2. The amount of salts added (For 30 g of meat and 15 cc. of water)
添加塩の所要量（魚肉 30 g，魚肉：水＝2：1 の場合）

Salt \ Concentration	0.1M	0.2M	0.3M	0.4M	0.5M
KSCN	0.36	0.73	1.09	1.45	1.82
KNO_3	——	——	——	——	1.90
KCl	——	——	——	——	1.40
K_2SO_4	——	——	——	——	3.27

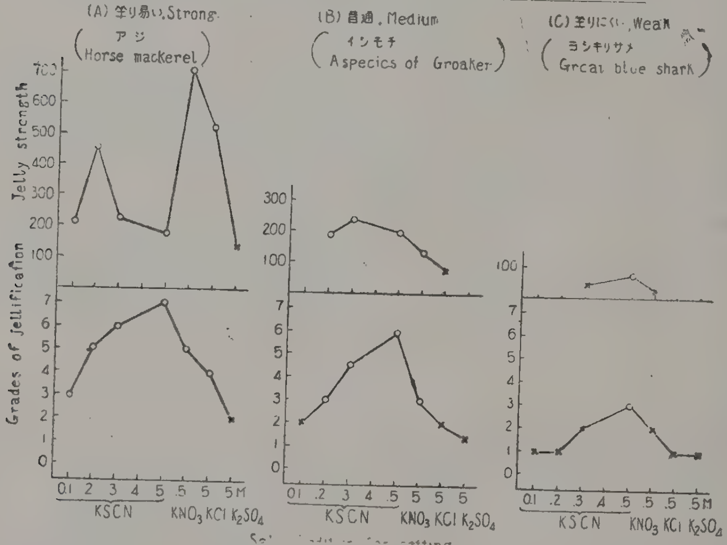


Fig. 2. Three grades of setting ability. 2, 3 の魚肉についての坐り生成能
Ordinate: jelly strength and grade of jellification. Abscissa: Salt conditions for setting.
○ 坐る，Jellified；× 坐らず，Not jellified

官能的判定の尺度　坐りの官能的判定の尺度としては，第2報[2]に用いた坐りの尺度をそのまま用いた（第1表）。

物理的測定　魚肉の坐り現象と関係があり，且容易に測定し得る物理的性質として J.S. を用いた。測定には松本氏等[4]による Gelometer を用い，結果は暫定的単位として直径 10 mm の球のついた押込み棒がゼリーを破るのに要する重さで示すことにした。

2.　判定方法

肉糊の調製と坐りの測定　乳鉢（直径5～7寸）に所要量（第2表）の塩と水 15 cc を入れ，塩が溶解した後，細砕された試料魚肉 30 g を入れ，充分に擂潰混和し（この操作に約5分を要する），ここに得た肉糊をシャーレ（直径2～3寸）に移し蓋をする*。このようにして塩の条件の異る 8 種の肉糊を調整す

* 肉糊は静置時間中に空気と接している表面で薄い被膜の形成が認められることがあるので，官能的判定及び物理的測定が不正確になるのを避ける目的で，シャーレに移した肉糊の上面には空隙をつくらず，肉糊が直接シャーレの蓋に接するようにしておく。

る。20°C に 15～20 時間静置した後，イ）おきている坐りの程度が第1表に示してある 0～7 のどの等級に相当しているかの官能的判定と，ロ）坐りの等級2以上の試料については物理的性状としての J.S. の測定を行う。

結果の表わし方　上記の判定法においては，定性的な坐りの等級と，物理的性状を表わす J.S. との二つが独立して得られる。坐り易さの程度を判定するためには，この二つを一つにまとめた形式で図示した方が見易い。そのために第2図に示すようにして，横軸に添加塩の条件を目盛り，縦軸には下部に坐りの等級（1～7），上部に J.S. を目盛り．坐りの等級及び J.S. のそれぞれの結果を図示する方法をとつた。

前報までに推論したように，魚肉の坐りにおいて蛋白粒子にイオンが界面化学的に吸着される現象が重要な役をなしていれば，本法の測定条件としてえらばれた塩の条件下では，これらのイオンの魚肉に坐りをおこさせる力は下記の如くになる。[2]

$$0.1M\ KSCN < 0.2M\ KSCN < 0.3M\ KSCN < 0.4M\ KSCN < 0.5M\ KSCN$$
$$> 0.5M\ KNO_3 > 0.5M\ KCl > 0.5M\ K_2SO_4$$

従つて本法の図示法に従うときには，官能的判定による坐りの等級の最高値は常に KSCN 0.5M 附近にあるが，物理的測定で得られる J.S. は必ずしもこの点で最高と限らない。即ち KSCN 0.5M における坐りの等級が6～7の高位にあるときには，そのとき生成している魚肉ゲルは脆いため J.S. は却つて小さくなり，図の下半に示されている官能的判定の曲線に高い山ができるのに対し，J.S. を示す上半の図の曲線にはその極小値を示す谷が現われる。一方坐りが3～5の等級にあるときにはこの谷は認められない。

そこで，この図示法によると魚肉の坐り生成能は次の3つに大別できる。

（A） 坐り易い――8種の添加塩の条件中，坐りの等級が3以上の値を示す場合が多く，その最高値は6又は7で，J.S. にはこの部分に極小値が認められる。

（C） 坐りにくい――坐りの等級が3以上の値を示す場合が少く，その最高値は低く，J.S. には極小値は認め難い。

（B） 普通――（A）と（C）との中間にあるもの。

今 2，3 の結果を例示すれば，第2図の如くで，アジ肉は（A）坐り易い；イシモチ肉は（B）普通；ヨシキリサメ肉は（C）坐りにくいとそれぞれ判定することができる。

考　　察

多くの魚肉では，添加塩の性質に応じて，第1表に掲げてある0～2；3～5；6～7の一連の坐りの等級が認めらそるが，ある種の赤身の魚肉*（例えばマグロ肉）の坐りは，何れの等級に相当するのか判定が困難な場合があつた。即ちそのときのゲルはある程度の剛性をもつており（従つて等級0～2ではない），弾力に乏しく（3～5の等級と判定するのには無理がある），しかも破れの強度は小さくなく，脆いゲルとは判定し得なかつた（即ち6～7とも判定しかねる）。このような坐りとアジ肉其の他の肉で観察されている坐りとの間にみられる差異を比較することはこの判定方法では無理があるように思われ，或は坐り自体の質的な方面での相異，即ち種類の異る坐りではないかとも考えられ，この点は今後の研究に俟ちたい。従つて，上述の判定方法は弾力のあるゲルの生成される坐りの場合に主として適用できるものである。

又，屢々のべたように多くの魚肉では種々の塩が魚肉に坐りをおこさせる力は異なり，一般に

ロダン塩＞硝酸塩＞塩化物＞硫酸塩

なる順位が認められる。しかるに，ある種のサメ肉では添加物の影響を坐りの等級についてみると，上記の一般的の傾向が認められるが，J.S. についてはこれと逆の傾向がみられるというような特殊な結果が得

* 詳細は別に発表の予定

られている*。このような魚肉では，或は坐りに与つている蛋白の特異性のためか，或は蛋白の存在している環境条件のためか，又或はイオンに対する親和力が多くの魚肉と異なつている可能性なども考えられる興味ある例であるが，かかる特異性も本法によつてある程度見出すことができる。

摘　　要

1，魚肉の坐りに影響を及ぼす諸条件（試料魚肉の濃度，添加中性塩の種類と濃度，静置時間及び温度）を吟味し，官能的判定を主とする魚肉の坐り生成能の判定方法を定めた。

2，魚肉2に対し水1を加えたものを試料とし，これに坐りをおこさせるための添加塩としては KSCN (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5M)；KNO_3 (0.5M)；KCl (0.5M)；K_2SO_4 (0.5M) をそれぞれ使用する。水及び塩を供試魚肉に加えて充分に擂潰混和し，これ等8種の条件のそれぞれの肉糊を調製する（この場合塩の濃度は肉糊中に含まれる水に添加塩が溶解したと考えたときに生ずる塩溶液のモル濃度を以て示す）。これ等の肉糊を 20°C に 15～20 時間静置した後，供試魚肉の坐りの程度を予め作つておいた基準(第1表)に従つて官能的判定によつて定め，物理的測定としてゼリー強度を測定する。ここに得られる2種の測定値を添加塩の条件に対して図示し（第2図），2種の曲線の組合はせから，(A) 坐り易い；(B) 普通；(C) 坐りにくいの3階級に大別して魚肉の坐り生成能の判定を行う。

3，上記の図示法によつて坐りを観察するときには，魚種によつて示される異常な坐り現象や，坐りの機作における特異性などについても，ある程度までの知識を得ることが期待できる。

終りにのぞみ，実験に御助力をいただいた東北水研高橋和子，佐藤富子両氏に厚く感謝の意を表する。

文　　献

1) 清水　亘：日水会誌，12，165—172 (1944).
2) 右田正男：岡田　稔：日水会誌，18，159—170 (1952).
3) 右田正男：岡田　稔：日水会誌，18，117—123 (1952).
4) 松本重一郎：新井とみ子：日水会誌，18，377—384 (1951).

* 詳細は別に発表の予定

魚肉の坐りについて—Ⅵ.
有機変性剤と無機塩の共存の影響

右田正男・岡田　稔
(東海区水産研究所)

日本水産学会誌
第二十巻 第六号 別刷
昭和二十九年十月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 6, October. 1954

魚肉の坐りについて—VI. 有機変性剤と無機塩の共存の影響

右田正男・岡田 稔
(東海区水産研究所)

Setting Phenomenon of Fish Muscle—VI. Influence of Coexistent Organic Denaturants on Setting Phenomenon caused by inorganic salts

Masao MIGITA and Minoru OKADA

In order to obtain further knowledge on the function of the inorganic salts in the setting, the influence of urea and guanidine hydrochloride (abbrev. Gu-HCl) present with inorganic salts have been studied, using horse mackel meat* as a sample.

Even when urea or Gu-HCl is present in so low concentration with inorganic salts as it cannot for itself make the meat set, setting of the meat due to inorganic salts is in general decidedly enhanced (Figs. 1 and 2). Thus under coexistence of a small amount of the organic denaturants, anions may be sorted as

1. those (0.1 M Cl^- and NO_3^-, 0.3–0.5 M SO_4^{--}) which cannot for themselves make the meat set, but are helped to form jellies;
2. those (0.3 M Cl^- and 0.1 M SO_4^{--}) which for themselves are effective in setting, but are promoted to form jellies of higher elasticity and strength;
3. those (0.1 M SCN^-, 0.3–0.5 M NO_3^-, and 0.5 M Cl^-) which for themselves are highly capable for making the meat set, but are enhanced to produce friable jellies;
4. those (0.3–0.5 M SCN^-) which for themselves cause the meat set into friable jellies and are unlikely affected by organic denaturants.

As it has been observed, there are two ways in the course of friable jelly formation, different according to the reagents added; a friable jelly is produced 'A' as such at the beginning, or 'B' through a jelly of high elasticity and strength. When a friable jelly is formed under coexistence of inorganic salt with Gu-HCl or concentrated urea, the course is of type 'A' (Fig. 4), while under the influence of salts and urea of low concentration present together, it follows course 'B' (Fig. 3). It is notable that Gu-HCl or urea alone forms a friable jelly of type 'B' even when present in high concentration[3].

Interpreting these results in the light of assumption that hydration of proteins and formation of some gel structure are the essential factors of setting phenomenon, the authors have been led to the concept: (1) moderate denaturation of proteins would be necessary for the formation of jelly of high elasticity and strength, while excessive denaturation would result in the formation of a friable jelly; (2) inorganic anions could take part in producing a gel structure by their action to

1954 年 10 月 13 日受理 東海区水産研究所業績 B 第 176 号 (印刷費負担)

denature proteins as well as in increasing the hydration of proteins.

* Sample meat was mixed with half its own weight of water.

前報[1)2)]において魚肉の坐りに及ぼす無機塩の影響からとくに陰イオンによる蛋白の水和の促進がこの現象に大きな役割をなしていることを明かにした。同時にたとえば脆い坐りの形成[2)3)]のように坐りの現象の中には水和だけでは説明しにくい事実のあることを経験し，坐りの場合にも gelatin や fibrin のゲル化の場合と同様ゲルの骨骼構造の形成もまた重要な要因となつているのではないかとの感を深くした。そして尿素や塩酸グアニジン等水素結合（以下H結合）を切る力のある有機変性剤を用いての実験[3)]で，低濃度のこれらの有機変性剤が存在する場合には無機塩同様弾力のある坐りが，得られるが試薬濃度の高い場合にはまず弾力のあるゼリーが作られそれが時間の経過につれて脆くなることから，少くともこの場合の弾力のある坐りには骨骼構造が形成されていることを間接的に推論した。

この変性剤による坐りの場合と同じような考え方によつて無機塩による坐りの場合にも骨骼構造が形成されていることを証明し，また形成された骨骼構造の性質について何か智識がえられるのではないかと考え，H結合を切る力のある上記の蛋白変性剤，尿素及び塩酸グアニジン（以下 Gu-HCl）が無機塩と共存する場合に坐りに及ぼす影響をしらべた。

実　　験

実験材料としてはマアジ精肉を用いアジ肉を水分/蛋白＝3/1 とみなして取扱つたことは前報同様である。実験は肉に半量の水を加えて水分/蛋白＝5/1 とし試薬を混和擂潰，通常 20°C に1晩放置した後五官検査によつて坐りの程度を判定すると共にゼリー強度（JS）を測定した。なお第1表のような五官検査による坐り判定基準[2)]を設け坐りの等級として判断した数字が大きい程坐りは強く起きているものとする。* 実験結果を示す図中の数字はこの坐りの程度をあらわす等級である。

第1表　坐りの程度

等級	外観		
0	粘性を生せず水を遊離		
1	粘稠な肉糊		
2	坐りかけ		
3	坐り		
4	坐り	弾力が強い	つやのある肉色
5	坐り	弾力が強い	つやのある白色
6	坐り	やゝ脆い	つやのない白色
7	坐り	脆い	つやのない白色

使用した無機塩は今迄の実験でその坐りに対する影響のよくわかつている K_2SO_4，KCl，KNO_3，KSCN の4種，有機変性剤としては尿素，Gu-HCl を用い，試薬の添加量は試料中の水分に完全に溶解したと仮定した際生ずべき試薬溶液のモル濃度であらわした。

I. 無機塩と尿素又は Gu-HCl との共存

無機塩は 0.1，0.3 及び 0.5 M，尿素は 0.5〜2.0 M，Gu-HCl は 0.1〜1.0 M 濃度になるように無機塩1種と有機変性剤1種とをいろいろに組合せて坐りの実験を行つた。本実験条件下では無機塩単独の場合には前報[2)]でみたように塩の種類，濃度による差がはつきり認められ，陰イオンの坐りを起させる力には Hofmeister 順列（H順列）が存在し，坐りの起る場合には塩濃度が高い程坐りの程度は高くなる。また変性剤単独の場合[3)]には尿素では $<$1.5 M，Gu-HCl では $<$0.2 M では肉と水とは分離して坐りは起らず，これら以上の濃度では坐りは起るが無機塩による坐りと較べると JS は極めて低く（$<$200），又尿素 2.5 M，Gu-HCl 0.75 M 以上では脆くなる。**

* 坐りの等級として決めた数字はゼリー強度の大小とは必ずしも平行せず 1〜4 級ではゼリー強度の値と比例するが，6，7 級になると逆にゼリー強度は小さくなる。

** 水分/蛋白＝3/1 では肉と水との分離は起らず，尿素 1.0〜2.0 M，Gu-HCl 0.2〜0.75 M で JS の高い坐りをつくり，それ以上の濃度では脆い坐りが出来る。

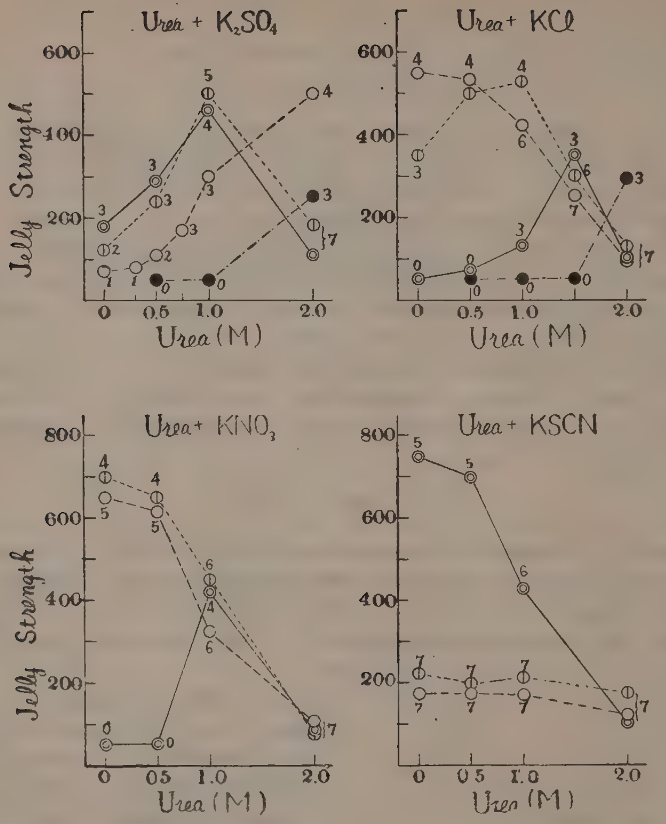


Fig 1. Influence of coexistent urea on setting caused by inorganic salts.

尿素と無機塩との共存の影響

Concentration of inorganic salts. ● 0 M; ◎ 0.1 M; ⦶ 0.3 M and ○ 0.5 M.

Figures in diagrams indicate the grade of jellification judged by sensory test.

しかし尿素，Gu-HCl 等有機変性剤が共存すると塩による坐りは塩だけの場合よりも JS の面からみても，また坐りの程度の面からみても促進される（Fig. 1 及び 2)。しかも有機変性剤の促進効果は変性剤単独の場合に坐りを起させる濃度よりもずっと低濃度で認められ，かつ変性剤の濃度が高いほど大きくなる。硫酸塩以外の 3 塩による坐りに対しては尿素でも Gu-HCl でも同じように促進効果を示すが Gu-HCl の方が低濃度で効果がある。たとえば Gu-HCl は 0.1 M、尿素は 1.0 M の共存によって KCl 0.3 M の坐りは促進されて坐った肉の JS が高くなり、KNO_3 0,5 M による坐りの程度が 5 から 7 に進み脆い坐りが形成される。しかし K_2SO_4 との共存の場合には尿素と Gu-HCl とではその影響がちがう。たとえば K_2SO_4 0.5 M 単独では粘稠な肉糊が出来るだけで坐りは起らないが，1.0 M 尿素が共存すると坐りが起るようになり，2.0 M 尿素共存では坐った肉の JS はかなり高く坐りの程度 4 と判定され，尿素共存が K_2SO_4 による坐りを促進することがはっきりと判る。一方硫酸塩以外の 3 塩による坐りに対して非常につよい促進効

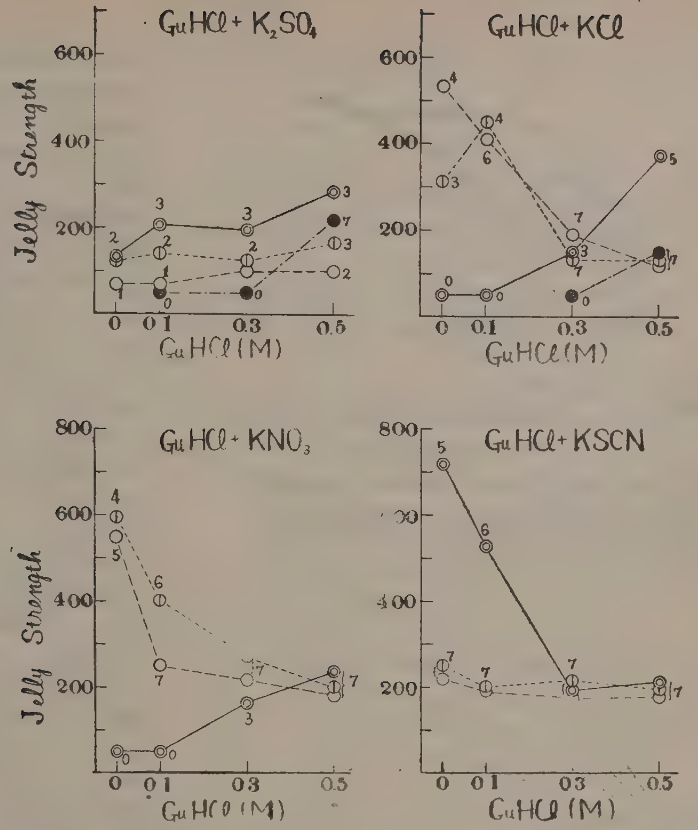


Fig 2. Influence of coexistent Gu-HCl on setting caused by inorganic salts.

Gu-HCl と無機塩との共存の影響

Concentration of inorganic salts. ● 0 M; ◎ 0.1 M; ⦶ 0.3 M and ○ 0.5 M.

果を示した 0.3, 0.5 M という比較的高濃度の Gu-HCl が 0.5 M K_2SO_4 と共存しても坐りは起らず，また 0.1, 0.3 M 硫酸塩との共存では尿素の場合ほど JS の高い坐りは形成されないなど，Gu-HCl では K_2SO_4 による坐りには尿素の場合ほどはつきりした促進効果が認められない。

第 2 表　無機塩による坐りに及ぼす共存変性剤の影響

群	特徴	例
A	1 M の尿素の添加で坐らなかつたものが坐り，坐つていたものはその JS が高くなる	K_2SO_4 0.1, 0.3, 0.5 M KCl 0.1, 0.3 M KNO_3 0.1 M
B	1 M の尿素の添加で脆い坐りがおこる	KCl 0.5 M KNO_3 0.3, 0.5 M KSCN 0.1 M
C	変性剤共存の影響がはつきりと認められないもの	KSCN 0.3, 0.5 M

変性剤特に尿素の共存による坐りの促進され方から判断すると，無機塩による坐りは第 2 表のように 3 つの群にわけられる。

II. 坐りの時間的経過

ロダン塩によつて出来る脆い坐りは始めから JS の低い脆いものとして形成される[2]のに対して，有機変性剤による脆い坐りは一度形成された JS の高い坐りが時間の経過とともに脆くな

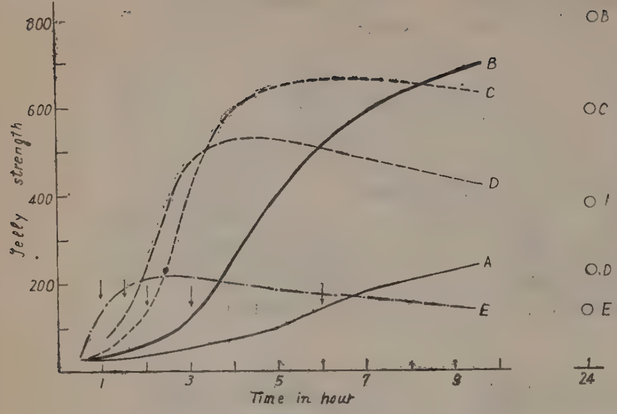


Fig 3. The course of setting caused by urea and KCl (0.3 M) present together.
尿素と KCl (0.3 M) 共存による坐りの生成過程
Concentration of coexistent urea: A 0 M; B 0.5 M; C 1.0 M; D 1.5 M and E 2.0 M.

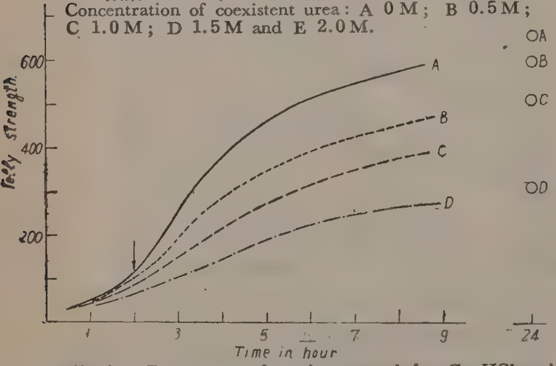


Fig 4. The course of setting caused by Gu-HCl and KNO_3 (0.5 M) present together.
Gu-HCl と KNO_3 (0.5 M) 共存による坐りの生成過程
Concentration of coexistent Gu-HCl: A 0 M; B 0.05 M; C 0.1 M and D 0.2 M.

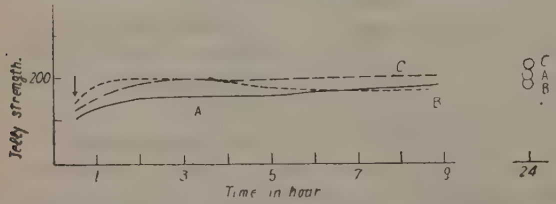


Fig 5. The course of setting caused by urea and KSCN (0.5 M) present together.
尿素と KSCN (0.5 M) 共存による坐りの生成過程
Concentration of coexistent urea: A 0 M; B 0.5 M and C 1.5 M.

つたものである。[3] 弾力のある坐りを起させる無機塩に変性剤が共存すると脆い坐りを生ずるが，この場合の時間的経過をみることは共存変性剤の作用機構を解釈すると共に無機塩による坐りの機構を知る上に極めて重要と考えられる。そこで共存変性剤の影響がちがつている第2表の A, B, C 各群の塩からそれぞれ KCl 0.3 M, KNO_3 0.5 M 及び KSCN 0.5 M を選び，これに有機変性剤をいろいろの濃度に共存させて坐りの時間的経過をしらべた。

KSCN 0.5 M では変性剤の有無に拘らず始めから脆い坐りとして生成される (Fig. 5) に対して，KCl 0.3 M, KNO_3 0.5 M では共存する変性剤が尿素か Gu-HCl かによつて坐りの時間的経過が違つている。尿素が共存する場合には KCl, KNO_3 ともに一度 JS の高いゼリーが形成され時間の経つに従いだんだん JS が低下し脆くなる。たゞし尿素の濃度が高くなるにつれて始めに形成されるゼリーの最高 JS は低くなりある濃度以上 (0.3 M KCl の共存するときは 2.0 M, 0.5 M KNO_3 では 1.5～2.0 M) になると始めから脆い坐りとして形成される。またゲル化速度(坐り始めるまでの時間)は共存尿素濃度が高いほど早い (Fig. 3)。一方 Gu-HCl 共存で脆い坐りが形成される場合には，共存 Gu-HCl 濃

度が低くても始めから脆い坐りとして形成され，尿素共存の場合のように中途に JS の高いゼリーが形成されることはない (Fig.4)。

考　察

I. 無機塩によつて坐つたゼリーの骨骼構造の問題

無機塩による坐りの場合にもゲルの骨骼構造が作られていることを何らかの形で証明したいというこの実験の目的は，0.3 M KCl 又は 0.5 M KNO_3 に比較的少量の尿素を共存させるといずれも一度 JS の高いゼリーが出来，これが時間のたつに従つて JS がおち脆くなる (Fig.3) という事実の確められたことによつて一応達せられたと考えられる。何故ならば脆い坐りの出来る時間的経過は前報[5] で取扱つた尿素又は Gu-HCl のみによる脆い坐りの場合と全く同じであるから，脆い坐りのできる機作も全く同じと考え，始めに出来る弾力のあるゼリーはH結合によつて安定を保たれている骨骼構造をもつたもので，そのH結合が尿素によつて切られるために構造が弱められ脆くなるとすることが出来るからである。しかも有機変性剤のみによる脆い坐りの場合と異なり，この場合共存している尿素の量は単独では粘稠な肉糊をさえ作りえないほどの少量であるから，中間にできたと推定される骨骼構造は共存した尿素のみの力で出来たものではなく無機塩の力が大いに与つていると考うべきである。たゞし厳密にいうと全く無機塩だけで尿素が存在しない場合でも同じように骨骼構造が出来るかどうかという問題が残されているわけである。

II. 変性剤の作用

変性剤の作用は前報[3] で論じたように蛋白の分子間乃至分子内のH結合を切つて蛋白分子の変形をおこさせることに基くものと考えられる。そして有機変性剤だけで坐りをおこさせる場合変性剤の量が適当なときは蛋白分子の変形の結果として蛋白の水和を増進させると共に，他方ペプチド鎖に運動の自由を与えてゲルの骨骼構造の形成を容易ならしめるが，過剰に加えられた場合は安定な骨骼構造の形成を妨げるものと考えられる。

しかるに変性剤と無機塩と共存する場合には加えられた変性剤の量は同じでも塩の種類及び濃度によつて変性剤は結果的にみるとある場合には主として骨骼構造の形成を容易ならしめるように仂き，ある場合には主としてこれを妨げるかのように仂くようにみえる。

例えば 1.0 M の尿素が共存しても 0.1～0.3 M KCl ではたゞ JS の高い坐りができるだけであるが 0.5 M KCl の場合には脆い坐りとなる (Fig. 1)．同じ濃度の尿素がなぜ前の場合にはゲルの骨骼構造を作るように仂き，後の場合には一度できた骨骼構造をよわめるように仂くのであろうか。こゝに無機塩による坐りの機作をとく1つの鍵があるように思われる。

A. 変性剤によつて弾力のあるゼリーの形成が促進される場合

単独では全く坐りを起しえない程度の尿素 (1 M) が第2表A群の各塩と共存すると JS の高い坐りを起すようになる。また Gu-HCl の場合もA群の硫酸塩を除いた各塩について同様なことがいえる。A群の塩

第 3 表　A群に属する無機塩による坐りに及ぼす尿素共存の影響

無機塩	単独	尿素共存 0.5 M	尿素共存 1.0 M
0.1 M KCl	肉と水と分離 (0 級)		坐る (3 級)
0.1 M KNO_3	肉と水と分離 (0 級)		坐る (4 級)
0.5 M K_2SO_4	肉糊を作る (1 級)	坐りかける (2 級)	
0.3 M K_2SO_4	坐りかける (2 級)	坐る (3 級)	
0.1 M K_2SO_4	坐る (3 級)	坐る (3 級)	坐る (4 級)
0.3 M KCl	坐る (3 級)	坐る (4 級)	

の中には 0.1 M KCl, 0.1 M KNO_3 のように単独では肉と水とが分離し粘稠な肉糊さえ作りえないものから正常の坐りを起させる 0.3 M KCl に至るまで各段階のものがあり，これらの塩に尿素が共存すると坐りの等級は第3表のように上つていく。肉と水と分離する（坐りの等級0級）、粘稠な肉糊をつくる（1級）、坐りかけ（2級），坐る（3級）という4つの段階の中，前2つは明かに肉蛋白の水和の増加と関係があり，坐りの段階が1級から2級及び2級から3級と上るのはわれわれの今までの考えによれば界面化学的吸着による水和の増加を意味する。従つて第3表の 0.1 M KCl, 0.1 M KNO_3, 0.5 M K_2SO_4, 0.3 M K_2SO_4 と共存する尿素は主として肉蛋白の水和を増すように仂くものと考えることができよう。0.3 M KCl, 0.1 M K_2SO_4 と共存する尿素の作用も同じように説明できるかもしれないが，この場合はそれぞれの無機塩だけでも弾力のある坐りをつくりうるのであるから，尿素の共存によつて坐りの等級の上つたことは蛋白が尿素によつて変形されることが安定な骨骼構造の形成に役立つているのではないかという可能性も除外することはできない。

B. 変性剤によつて骨骼構造の形成が阻害される場合

第2表B群の塩は，A群の塩ならば尿素又は Gu-HCl の共存によつて弾力のあるゼリーを作るような条件の下でもろい坐りをつくる。この場合肉蛋白の水和の増進という条件は無機塩単独でも JS の高い坐りがおきるから一応無機塩によつて満足されていると考えられる。従つて変性剤は肉蛋白の水和の増進よりもむしろ坐りのもう1つの要因と考えられる骨骼構造の形成に関係しているのではないかということも考えられる。即ち一般にゲルの高弾性が骨骼構造の存在で説明されているように，坐りの場合にも JS の高いゼリーには丈夫な骨骼構造が必要であると仮定すると，H結合を切る力のある変性剤が共存すると丈夫な骨骼構造ができにくくなりために脆いゼリーになると考えるのである。この場合の共存変性剤の作用機構については変性剤の濃度，種類によつて次のような2通りの仮定が考えられよう。

1） B群の塩に比較的低濃度（1.0 M）の尿素が共存するとまず弾力のあるゼリーができこれが時間と共に低くなつていく事実は，変性剤はこの場合主として一度作られたゼリーの骨骼構造の安定に与つているH結合を切るように仂くものと思われる。

2） B群の塩に Gu-HCl 又は高濃度の尿素が共存するときは KSCN によるもろい坐りの場合[2]と同様脆い坐りの生成過程に JS の高い弾力のあるゼリーの作られないことから，KSCN の場合に仮定したと同じように変性剤は骨骼構造を作る実質である肉蛋白（多分 myosin）を強く変性させるように仂き，その結果安定な骨骼構造が作りえないのではないか。たゞこの場合存在する変性剤の量は単独では初めから脆い坐りを起させず，一度弾力のあるゼリーを作り時間と共に脆いゼリーとなつていく程度のものであることは注目に値する。

C. 変性剤共存の影響がはつきり認められない場合

第2表C群の塩はこれに属する。この群に属する 0.3～0.5 M KSCN は単独でも官能的判定で最高の脆い坐りをおこさせる。従つてもはや尿素や Gu-Cl 共存の影響を受けないとも考えられるし，また実際には脆い坐りの程度が更に進められているのだが今の所脆い坐りの程度を判定する適当な方法がないのでこれを知ることが出来ないのかもしれない。

Ⅲ. 無機塩の蛋白変性作用について

今迄われわれの行つた多くの実験結果は既にしばしば述べたように魚肉が坐りをおこすためには蛋白の水和が増進されることと安定な骨骼構造の作られることが必要であることを示しているように思われる。もしそうだとすると蛋白の変性はこの2つの要因を満す一つの重要なきつかけとなりうるものであるから，添加物質の蛋白変性作用の有無，強弱は坐りに重大な影響を与える筈である。この意味で坐りにおける無機塩の役割を改めて検討する必要があるように思われる。何故ならば今までわれわれは坐りに対する無機塩の作用として蛋白の水和を増進するという点だけを考えてきたが，塩類もまた蛋白を変性させる力をもつていると

考えられるからである。例えば EDSALL and MEHL[5] は actomyosin の流動複屈折を消失せしめる力には

$$SCN^- > I^- > NO_3^-, Br^- > Cl^-$$

の順が存在し，Cl^-，硫酸塩，燐酸塩溶液中では流動複屈折は安定であることをみており，同様な事実を DAINTY 等[6] も認めている。さらに BURK[7] は尿素変性による蛋白の SH 基の遊離に対する無機塩の影響を実験し，アルカリ金属塩の陰イオンは尿素変性を阻害する力をもちその力は

$$Fe(CN)_6^{-4} > Citrate > SO_4^{--} > Acetate > Cl^- > NO_3^-, Br^- > I^-$$

のH順列の順に弱くなること，また NO_3^-，Br^-，I^- 等は逆に蛋白の尿素変性を促進することをみている。また卵 albumin に対するグアニジン塩の変性作用[5] は陰イオンによって異り，最大量の SH 基を遊離させるのに必要な濃度はグアニジンのロダン塩，沃化物では 3 M，塩化物では 5 M であるのに対し硫酸塩，炭酸塩でははつきりした変性作用が現れず，グアニジン イオンの蛋白変性作用が相手の陰イオンによって促進されたり阻害されたりすることが知られている。

このようなことから無機陰イオンは蛋白を変性する作用，又は変性を促進する作用をもち，この力にH順列が存在すると考えることはけして無理ではないように思われる。

一方アルカリ塩による坐りにおいて陰イオンの坐りを起す力には

$$SCN^- > I^- > NO_3^- > Cl^- > SO_4^{--}$$

なるH順列が認められ，この順序は陰イオンが界面化学的に吸着されて蛋白を水和させる力と一致することは今までにしばしば述べてきた所であるが，この順列の上位にあり坐りを起す力の強い SCN^-，I^- は H 結合を切る力があるといわれているばかりでなく，上記のようにこの順列はまたそのまゝ無機陰イオンの蛋白変性または変性促進の順序となつている。このことは蛋白の変性が坐りの 2 つの要因である蛋白の水和及びゲルの骨骼構造の形成に関係のあることを考えれば自らうなづけるところであろう。

このように無機塩に蛋白を変性または変性を促進する力を認めれば無機塩に蛋白の水和を増進させる力だけを考えたのでは説明できないような事実にも一応の解釈を与えることが出来る。即ち尿素または Gu-HCl が単独で坐りをおこさせる場合の時間的経過をみると，それぞれ 6 M，3 M という高濃度でも必ず JS の高いゼリーを経て脆い坐りが出来る。しかるに無機塩と共存すると 2 M 以下の尿素，0.1～0.3 M の Gu-HCl でも中途に JS の高いゼリーを作ることなく始めから脆い坐りを生ずる事実である。はじめから脆いゲルの出来る坐りの経過はロダン塩によって魚肉の坐る場合にもみられ，その原因としてさきにわれわれは蛋白が強く変性されるため安定な骨骼構造が形成されないためではないかと想像した。もしこの考えに誤りがないとすれば尿素または Gu-HCl が無機塩と共存すれば比較的低濃度でも始めから脆い坐りのできるのは，両者の蛋白変性力の相和乃至相乗的効果によってロダン塩の場合のように蛋白の過度の変性がおきるためではないかという解釈も不可能ではない。

またA群に属する塩とB群に属する塩とで共存変性剤の影響がちがつている事実も塩が変性作用をもつていることを認めれば容易に説明しうる。即ちA群に属する塩は元来蛋白変性力に関しH順列の下位にあるものかまたごく濃度の低いものである。したがつてB群の塩にくらべると蛋白変性力はよわいと考えられる。

今同じ少量の有機変性剤がこの両群の塩に加えられた場合の結果を脆い坐りに関するわれわれの従来の仮設からみると，A群の塩では有機変性剤が無機塩のよわい蛋白変性力を補つて蛋白に適度の変性を与え，ために弾力のある JS の高い坐りができるが，B群の場合は無機塩と有機変性剤の蛋白変性作用の相和の結果として蛋白の過度の変性が行われるため脆い坐りができると解釈される。

Gu-HCl と尿素と無機塩に共存させた場合坐りを促進させる効果は一般に Gu-HCl の方が著しいが，これは Gu-HCl の方が尿素よりも蛋白変性作用の強いこと[9] から説明できる。しかし無機塩が K_2SO_4 の場合は尿素には坐りを促進させる効果が認められるが，Gu-HCl にははつきりと認められないことは今のところ説明できない。

摘　　要

1. マアジ肉を用いて無機塩の坐りに及ぼす尿素及び塩酸グアニジンの影響をみた。

2. 一般に単独では魚肉の坐りを起しえない程度の尿素又は Gu-HCl が共存しても無機塩による坐りは著しく促進される。

3. 低濃度の変性剤の共存によつて受ける影響からみると無機塩は坐りに関し3つの群にわけられる。

A 弾力のある坐りの促進されるもの：

Cl^- 0.1～0.3 M, SO_4^{--} 0.1～0.5 M, NO_3^- 0.1 M

B 脆い坐りができるもの：

SCN^- 0.1 M, NO_3^- 0.3～0.5 M, Cl^- 0.5 M

C 影響をうけないもの：

SCN^- 0.3～0.5 M

4. Gu-HCl の共存及び高濃度の尿素の共存の際に生ずる脆い坐りははじめから脆い坐りとして形成されるのに対し，低濃度の尿素の共存の場合には一度 JS の高いゼリーを形成し時間の経過につれて脆くなる。

5. 以上の実験結果を坐りには肉蛋白の水和とゲルの骨骼構造の形成の必要である立場から種々論じ，JS の高い坐りが形成されるには蛋白分子が適当な変性をうける必要があること，過度の変形をうけた場合には脆い坐りを生ずることを推論した。

6. さらに無機塩は肉蛋白の水和を増進するほか，塩自身のもつ変性作用によつてゲルの骨骼構造の形成にも与つていることを推論した。

引　用　文　献

1) 右田正男・岡田稔：日本水産学会誌 **18**, 117 (1952).
2) 〃 : 〃 **18**, 159 (1952).
3) 〃 : 〃 **19**, 589 (1953),
4) 〃 : 〃 **20**, 213 (1954),
5) J. T. Edsall & J. W. Mehl: *J. Biol. Chem.* **133**, 409 (1940).
6) M. Dainty et al: *J. gen. Physiol.* **27**, 355 (1944).
7) N. F. Burk: *J. Phys. Chem.* **47**, 104 (1943).
8) J. P. Greenstein: *J. Biol. Chem.* **130**, 519 (1939).
9) J. P. Greenstein: *J. Biol. Chem.* **125**, 501 (1938).

魚介肉抽出液の流動複屈折

岡田　稔・多田節子
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻　第三号　別刷
昭和二十九年七月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 3, July. 1954

魚介肉抽出液の流動複屈折

岡田 稔・多田節子
（東海区水産研究所）

Streaming birefringence in extracts of muscles of aquatic animals

Minoru OKADA and Setsuko TADA

1. For the purpose of studying alteration of muscle proteins, especially of actomyosin which is notable for its streaming birefringence, a simple apparatus for detecting streaming birefringence has been constructed (fig. 1). If a solution gives intense streaming birefringence (S.B.), the liquid lights up brilliantly under the polaroids on flowing with a slow rotary motion (e.g. 100—200 r.p.m.) and a dark cross of isocline on the bright field can readily be observed.

2. Extracts with KCl (pH 8.1) of muscles of most aquatic animals tested showed S. B. This had a relation with the fact that actomyosin is extractable with salt solution. In spite of insolubility of actomyosin in water, pronounced S. B. was observed in extracts of mollusk muscles with water (table 1). In this connection, it may be pointed out that H_2O extracts of mollusk muscles were found to contain a large amount of muscle protein belonging to 'myosin fraction'[4]. S.B. was also detected in aquatic suspension of water-extracted-residue of fish or shrimp muscle.

In KCl extracts of some bivalve muscles, S.B. could not be detected. When H_2O extract of fan shell was diluted with H_2O or KCl stepwisely, S.B. could be still detected as far as eightfold dilution with H_2O but dilution only up to fourfold with KCl gave S.B.

3. It is well known that actomyosin begins to coagulate rapidly near 38—40°C. When comminutated muscle was heated in water above 40°C. for 5 minutes, KCl extract of heated muscle of fish or shrimp did not give S.B., but extract of mollusk muscle heated at 60°C. with KCl or water remained to show intense S.B. (table 2). It was interesting to see that in extract of squid meat heated at 40°C. for 5 minutes, S.B. could not be detected. While on prolonged heating at this temperature, or heating at 45°C. for 5 minutes, the extracts did not lose their S.B.

S.B. of KCl extracts of muscles was destroyed on heating above 42°C., except that of squid meat which did not lose its S.B. at 50°C. (table 2).

It was surprising to find that H_2O extract of mollusk meat retained the S.B. even when heated at 70—80°C. for 5 minutes. If KCl was added to H_2O extract, S.B. was destroyed on heating at the same temperature as that of KCl extract (table 3). It seems that KCl might cause dissociation of particles contained in the H_2O extract into ones which were perhaps as smaller as those contained in KCl extract.

4. When meat was kept at −15°C. for 1—2 weeks, S.B. did not appear in extracts of frozen meats of most animals experimented, but it did in extract of squid meat kept frozen even for one month (table 4).

1954年6月11日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第157号

Stability of squid meat against freezing was also observed in case of freezing KCl extract; namely, when KCl extract of muscle was frozen, fish lost its S. B. after 1—2 days in contrast with squid giving S.B. as long as 5 days (table 5).

If H_2O extract of squid meat was frozen even for one day, a bulk of precipitate formed and S.B. was not observed. In this connection, Snow[8] found that freezing caused extensive denaturation of actomyosin when the protein was in the form of suspended gels, but not when it was dispersed in salt solution.

5. It could be suggested that water extract of mollusk muscle might contain actomyosin as suspended particles composed of many molecules.

直交した偏光板の間に非対称の形をした粒子を含む溶液を置いて観察しても視野は暗いがこの液に回転運動をさせると視野は明るくなり黒い十字が現われる。この現象は流動複屈折（以下 S. B. と略記）とよばれ溶液中の粒子が流動によつて一定方向にならぶため溶液が光学的に異方性となりこれを通過する光が複屈折するためである。この複屈折は粒子自身が異方性でしかも相当に大きい時にとくに顕著であるが，小分子でも速度勾配が大きくなれば S.B. を示すようになる。また定量的に取扱えばこの S.B. の強さ，消光角から粒子の大きさ，形を知ることも出来，蛋白質についてもこの方法で分子量，形状の測定が多く行われている[1]。

簡単に考えれば，分子量が大きく，かつ細長い粒子は溶液中で配向しやすいから低速度勾配でも S. B. があらわれることは容易に理解しうる。例えば筋肉の主要成分である所謂 myosin (actomyosin) は 0.5～5μ の非常に細長い粒子であり，その溶液は強い S.B. を示し，直交偏光板の間においた myosin 溶液を硝子棒で攪拌するという非常に簡単な操作でも複屈折が認められる位である。Edsall & Mehl[2] は myosin 溶液にロダン塩，$CaCl_2$, $MgCl_2$ 等を加えたり，pHの調節，加熱などの処理をすると，このような方法では S.B が認められなくなる程非常に低い値となることを報告している。この変化は actomyosin が actin と L-myosin に解離したり，変性をうけることによつて分子の長さが短くなつたためとされている。逆に低速度勾配で S.B. が認められるということは，溶液中に細長い高分子量の粒子が存在していることを意味するといえよう。

我々は簡単な流動複屈折検出装置を試作し定性的ではあるが種々水産動物肉を用いて抽出液の S. B. をみたがこの方法が肉蛋白の変化を追跡するのに極めて有用であることを知り，また軟体動物の水抽出液が S. B. を示すこと，S.B. の安定性が動物の種類によつてちがうこと等興味ある事実をみた。

我々が使用した流動複屈折検出装置は第1図の如くで，偏光子，検光子としての2枚の偏光板，試験液を入れたビーカーをのせる支持台（ボールベアリングで円滑に回転しうる），支持台に回転運動を与える手まわし車から出来ている。支持台は毎分 100～250 回転の速さで動かして S.B. を観察する。

この装置では液の S.B. が強い時には液を流動させた際はつきりした黒十字が認められ，容易に S.B. を示すことを検出しうるが，液の S.B. が弱い場合には回転数をあげても視野は暗いまゝで* 液が S. B. を示しているか否かの判定を下すことは難しい。この装置はあくまでも定性的なもので S. B. がこれによつて認められないということは，液が S. B. を示さないことを必ずしも意味するものではなく，認め難い程弱いということで，適当な装置を用い速度勾配を大にすれば S. B. を示すことは充分にありうる。いろいろ実験を行つた結果，偏光子を出た光の通過する液層中に存在する S.B. を示す蛋白量が S.B. 検出に大きく関係することを経験した。同一蛋白濃度の液なら液層の厚い程，同一液層なら蛋白濃度の高い液程はつきりと S.B.

* 液の S.B が弱い時は視野がやゝ明るくなりはつきりした黒十字は認められないが，黒い蔭が流れるように認められるので判定出来ることもある。

が認められる。従つてこの装置を用いて実験する場合には S. B の観察条件を一定にして行わなければ比較実験をすることは出来ない。我々は底をみがきガラスとした内径 4.5 cm のビーカーを用い液量 10 cc（液層約 1.2 cm）として行つた。

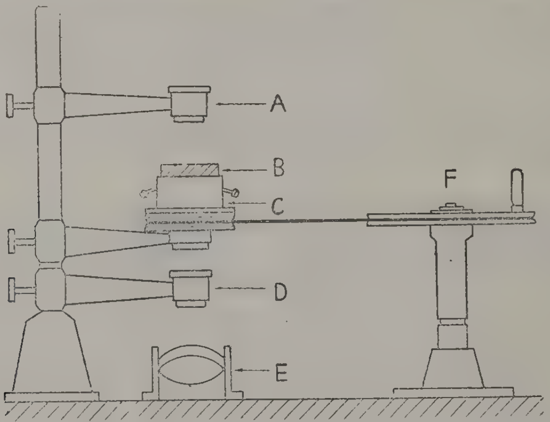


Fig. 1. Diagram of the apparatus for detecting streaming birefringence (not to scale).

流動複屈折検出装置

A: analyzer 検光子　B: beaker with liquid tested ビーカー
C: rotary bench supporting beaker 支持台　D: polarizer 偏光子
E: mirror 鏡　F: hand-wheel for moving the bench 手まわし車

実験結果及び考察

1. 魚介肉水抽出液の S.B.

抽出液の作製には2通りの方法を用いた。1つは肉に海砂を加えて乳鉢で磨砕，これに抽出剤を徐々に加えてよく混和する。他の1つは blender を用い肉と抽出剤とを同時に入れて1分間破砕抽出する。抽出剤は肉に対し5倍，または20倍を用いた。抽出操作後 3500～4000 r.p.m. で 10 分間遠心分離し上澄液の S.B. を検した。尚抽出は特に温度を調節することはせず室温（10～20°C）で行つた。

抽出剤として 0.6 MKCl（$NaHCO_3$ を用い pH 8.1 に調節）を用いた場合，実験に用いた大部分の魚介類（ある種の貝類を除く）の肉抽出液は，はつきりと S.B. を示す*。塩溶性蛋白である actomyosin は 0.6 MKCl 抽出液には溶解して来ている筈であり S.B. を示すことは当然であろう．また抽出剤として蒸溜水を用いた場合には魚肉では S.B. を示さない。これは actomyosin は水に不溶であるから水抽出液（厳密には肉中の無機塩の稀薄溶液）には溶けて来ないか，溶けてもごく僅かであるからと説明出来る。

しかし軟体動物に属するイカ，貝類の肉の水抽出液は極めて強い S. B. を示す。このことはこれらの肉の水抽出液中に actomyosin が溶出して来たと解釈すべきであろうか。 また軟体動物では actomyosin 以外に S. B. を示す物質が存在してこれが水にとけて来たとも考えられる。 事実血液色素蛋白である hemocyanin が S. B. を示すこと[3] が知られているが肉蛋白にくらべてその量はごく少いと思われるし，軟体動物の水抽出液にはかなりの肉蛋白が溶出してくることが松本[4] によつて証明されているので S. B. を示すものは肉蛋

* 活鯉の場合に KCl 抽出液が非常に混濁し，S. B. が認められなかつたのを経験したこともある。

Table 1 S. B. in extracts of muscles of aquatic animals with 0.6 M KCl (pH 8.1) or H_2O (extractant/muscle/=20/1)

0.6 M KCl (pH 8.1) 及び H_2O 抽出液の S. B. (抽出剤/肉=20/1)

抽出剤	extractant	0.6 MKCl	H_2O	抽出剤	extractant	0.6 MKCl	H_2O
コイ	Carp *Cyprinus carpio*	+	−	スルメイカ	Squid I *Ommastrephes sloani pacificus*	+	+
サバ	Mackerel *Scomber japonicus*	+	−	ヤリイカ	Squid II *Loligo bleekeri*	+	+
アジ	Horse mackerel *Trachurus japonicus*	+	−	アワビ	Ear shell *Haliotis gigantea*	+	+
トビウオ	Flying fish *Cypselurus agoo*	+	−	バカガイ	Hen clam *Mactra sulcataria*	+	+
ムシガレイ	Sole *Xystrias grigorjewii*	+	−	アサリ	Baby clam *Venerupic phylippinarum*	−	+
ボタンエビ	Shrimp I *Pandalus nipponensis*	+	−	タイラガイ	Fan shell *Pinna pectinata japonica*	−	+
サルエビ	Shrimp II *Trachypeonaeus curvirostris*	+	−	シロネズミ	*Rat* (control) *Rattus norvegicus*	+	−
クルマエビ	Prawn *Penaeus japonicus*	+	−				

+ : S. B. was detected by the apparatus employed in this study.
− : S. B. was not detected.
The same symbols were used in table 4 and 5.

白のある成分ではなかろうか？

一般に魚肉の組織はイカ等よりも複雑であり，機械的にも磨砕され難い。我々が抽出液をつくる場合に海砂で磨砕する方法と blender による方法とを用いたが死後ある程度時間のたつた魚肉では海砂法でつくつた KCl 抽出液には S. B. が認められないが，blender 法の抽出液では認められることを屢々経験した。このような抽出方法如何によつて抽出液の S. B. が認められないということはイカ肉の場合には経験されず常に S. B. が認められる抽出液が得られた。このような抽出性の難易が或はイカ肉の水抽出液では S. B. が認められる原因とも考えられるが，魚肉を blender で反覆して磨砕抽出したが S. B. の認められる抽出液はついに得られなかつた。

またイカ[5)]，貝類[6)] の肉の等電点は約 4.8 で，魚肉の 5.3 にくらべて酸性側にずれている。5倍量の水で抽出する場合には，軟体動物では pH 6.5～9.0 で S. B. が認められる* が，軟体動物と同様等電点が低い (4.8附近) エビ類[6)] では pH 6.5 附近では S. B. は認められず，8.0～9.0 で S. B. を示すだけである。又魚肉では抽出液の pH をかなり高くしても S. B. は認められなかつた。軟体動物肉の水抽出液が S. B. を示すことは単に肉蛋白の等電点と抽出液の pH との関係では説明できない。

軟体動物の肉を 20 倍量の水で抽出し遠心分離すると，上澄液，沈澱，及び半透明な流動性の中間層の 3 層に分れ，上澄液は S. B. が認められない。しかし反覆水抽出を行うと第2回目からは上澄液に S. B. が認められるようになる**。また中間層を水に懸濁させたものも強い S. B. を示す。なお水抽出液がこのように 3 層にわかれることはエビ類でも認められ，この場合反覆抽出を行つても上澄液には S. B. は認められなかつた。たゞし中間層の水懸濁液は強い S. B. を示す。魚肉では上澄液と沈澱の 2 層のみで半透明な中間層は認められない。しかしコイ肉，カレイ肉でもこの沈澱を水に懸濁させると S. B. を示すことを経験した。この

* タイラガイのみ示さなかつた。

** アワビでは第一回でも＋

様にエビ類や魚肉でも水抽出液の沈澱部分の水懸濁液が S. B. を示すという事実と考えあわせると，軟体動物では S.B. を示す蛋白が水に懸濁しやすいため水抽出液が S.B. を示すとも考えられる。

貝類の水抽出液は非常にはつきりした S.B. を示すのに対して KCl 抽出液は S.B. はあつても弱く（アワビ，バカガイ）また認められないものもある*（アサリ，タイラガイ）。

タイラガイの水抽出液を 2 分し，1つは水で他の 1つは KCl（濃度 0.5 M になるようにして）で階段稀釈を行うと，水で稀釈した場合には 8 倍でも S.B. は認められるが，KCl 稀釈では S.B. が認められるのは 4 倍までであり，KCl の存在は S.B. の安定性を低くするとも考えられる。

S. B. を示す物質の本体が何であろうと軟体動物の肉の水抽出液が他の魚介肉の水抽出液とちがつて強い S.B. を示すことは興味あることである。

我々が実験に用いた魚介類は，鯉，クルマエビ（対称に用いた白鼠）以外は凡て死後相当時間の経つたと考えられる市販品であるが，いずれも KCl 抽出液が S.B. を示すという結果を得た。鯉を用いて鮮度と S.B. との関係をみたが，肉又は抽出液がかなりの腐敗臭を出すようになつてもなお S. B. を示す。またイカ肉でも腐敗臭が発するようになつても，その水抽出液には S.B. が認められた。

2. 魚介肉蛋白の S.B の安定性

動物の種類によつて加熱，凍結に対する肉及び肉抽出液の S.B. の安定性がちがつていることを認めた。

A. 加熱に対する安定性

イ. 肉を加熱する場合

肉を約 0.5 cm 角に細切し，これを一定温度の水浴中に 5 分間浸漬，冷却後肉に対して 20 倍量の 0.6 M KCl (pH 8.1) または H_2O で blender 法によつて抽出した。H_2O 抽出は通常 2〜3 回繰返し行つた。加熱肉の抽出液に S.B. の認められる最高加熱温度は第 2 表の通りでイカ肉（70°C）は他の魚介肉（約40°C）にくらべて非常に高い。

Table 2 Stability of S.B. against heating

S.B. の耐熱性　S.B. の認められる最高温度（C°）

Test animal		①肉を加熱した場合 Extracts of heated meat with		②抽出液を加熱した場合 Heated extracts of		Test animal		①肉を加熱した場合 Extracts of heated meat with		②抽出液を加熱した場合 Heated extracts of	
		KCl	H_2O	KCl	H_2O			KCl	H_2O	KCl	H_2O
コイ	Carp	35		40	(60)	ヤリイカ	Squid II	65	65	50	>70
カレイ	Sole			38	(60)	アワビ	Ear shell			<45	>85
トビウオ	Frying fish	35		37		バカガイ	Hen clam	65	65	35	>75
ボタンエビ	Shrimp I	35		30	(40)	アサリ	Baby clam				50
サルエビ	Shrimp II			35		タイラガイ	Fan shell				>75
クルマエビ	Prawn			40	(40)	シロネズミ	Rat			40	
スルメイカ	Squid I	70	60	50	>80						

Figures indicate the highest temperature (C°) at which S.B. could be detected in extracts of heated meat or in heated extracts, and figures in parentheses show those of heated aquatic suspension of water-extracted-residue.

Meats were heated in water bath with given temperature for 5 minutes, and extracts were done after they reached at given temperature for 5 minutes. (Temperature of extract rose in 3—4 minutes to given temperature in water bath.)

* カタツムリも KCl 抽出液 −，水抽出液 + であることが知られている[4]。

actomyosin は 45°C 附近から熱凝固を始めることが知られているが，多くの魚介肉で 40°C 以上に加熱すれば S.B.を示す抽出液が得られないのは actomyosin が凝固したゝめであろう。

面白い事にイカ肉（スルメイカ，ヤリイカ）を加熱する場合 40°C，5分加熱では，KCl，H_2O 両抽出液とも S.B.が認められないが，35°，45°，5分では，ともに S.B.が認められ，また 40°C で 10～15 分以上加熱すると S.B.は再び認められるようになる。このことから加熱イカ肉で S.B.を示すものが，40°C より高温の場合と低温の場合とでは違つた性質のものであるとも考えられる。

ロ．抽出液を加熱する場合

0.6 M KCl 及び H_2O 20 倍抽出液を小型試験管にとり一定温度の水浴中に入れ，液温が水浴の温度と平衡に達してから 5 分間浸漬，直ちに冷却して S. B.を検した。大低，水浴に入れてから 3～4 分で平衡に達する。S.B.の認められる最高加熱温度は第 2 表の通りである。

一般に KCl 抽出液は 37～40°C まで S.B.が認められるが，43～45°C では S. B.は認められない。この温度は須山氏[7]が粘度の測定から求めた actomyosin の凝固温度と一致し凝固蛋白量から求めたいろいろの研究者の値に近いものである。しかしイカでは S.B.のみえなくなる温度は他のものに較べ，約 10°C も高く 53°C 以上で始めて認められなくなる。このことは，イカの actomyosin は他のものにくらべて高い凝固温度をもつているのであろうか。または全肉の抽出液を用いているのでイカ肉には何か耐熱性をますような物質が共存しているためであろうか。なお，イカ肉を加熱した場合にみられた 40°C での特異性はこの際には見られなかつた。

軟体動物の H_2O 抽出液* は強い S.B. を示すが熱に対する安定性も KCl 抽出液よりもはるかに高く，アサリの 50°C を除けば 70～80°C の高温にさらしても S.B.は消失しない。しかし沸騰水中に浸漬すれば蛋白の凝固がおこり S.B.は認められなくなる。

このように S. B を示す H_2O 抽出液は熱に対して極めて安定であるが，これに KCl を加えると耐熱性が著しく低下し略 KCl 抽出液の S.B.の消失する温度と同じになる（第 3 表）。このことから判断すると KCl を加えることにより，H_2O 抽出液で S.B.を示す蛋白が何らかの変化をうけて耐熱性が低下したとも考えられ，更に H_2O 抽出液中で S.B.を示すものは KCl 抽出液と本質は同じもので，たゞ何か熱に対し安定な状態（形）で存在しているとも想像される。

Table 3 Lowering of thermal stability of S.B. in H_2O extracts by addition of KCl

水抽出液を稀釈した場合，S.B の認められる最高温度(°C)

稀釈剤 (1:1) dilutant		H_2O	1 M KCl
スルメイカ	Squid I	>60	52
ヤリイカ	Squid II	>70	50
アワビ	Ear shell	>75	40
バカガイ	Hen clam	>75	40
タイラガイ	Fan shell	>75	35
コイ	Carp	(60)	(38)
カレイ	Sole	(60)	(35)

See table 2 for explanation of figures. H_2O extracts of meat were divided to halves; a part of them was diluted with the same volume of H_2O and the other done with 1 mole. KCl. Thermal stabilty of extracts was not affected by dilution with H_2O, but lowered by dilution with KCl to the same stability of KCl extracts.

B. 凍結に対する安定性

イ．肉を凍結した場合

肉を −15°C で凍結，貯蔵して S.B.の消長を見た。凍結肉を解凍後 0.6 M KCl または H_2O で blender を用いて抽出した。実験に用いたほとんどすべての動物肉は，凍結後 1～3日では KCl 抽出を行うと S.B.を示すが凍結期間が長くなるとイカ肉以外では S.B が認められない。

* エビ類の水懸濁液の S.B.は KCl 抽出液同様 40°C 以上では S.B.を失うが，コイ，カレイの水懸濁液の S.B.は 60°C でも認められる。しかしこの場合 KCl を加えると 40°C 附近にまで低下する。

Table 4 S.B. in KCl extracts of frozen muscles
凍結肉の KCl 抽出液の S.B. （ ）水抽出液

Days storage at −15°C 凍結日数（−15°C）		1	7	14	30
コ イ	Carp	+	{+ −}	−	
トビウオ	Flying fish	+	−		
ボタンエビ	Shrimp I	+	+	+	−
クルマエビ	Prawn	+			
スルメイカ	Squid I	+	+(+)	+(+)	+(+)
ヤリイカ	Squid II	+	+(+)	+(+)	+(+)
アワビ	Ear shell	+	−		
タイラガイ	Fan shell	+	−(−)		
バカガイ	Hen clam	+	−(−)		

Symbols in parentheses indicate S.B. of H_2O extracts.

また H_2O 抽出液が S. B.を示すイカ，貝類の肉は凍結すると貝類は1週間経つと水抽出液に S. B.は認められなくなるが，イカ肉では1ケ月以上でもなおS.B.を示す(第4表)。

なお市販の冷凍品でもイカは H_2O，KCl 抽出液とも S.B.を示す* が魚肉では認められなかつた。

このようにイカ肉は凍結しても肉の抽出液の S.B.は長期間にわたつて検出される。

ロ．抽出液を凍結した場合

上記同様調整した肉の KCl 抽出液または H_2O 抽出液を −15°C に凍結，貯蔵して解凍後の S.B.を検した。

魚肉の KCl 抽出液は 1〜2 日以上凍結すれば S.B.が認められなくなる。これに対してイカ（スルメ，ヤリ）肉の KCl 抽出液は5日間凍結しても S. B.を示すが6日以後では S. B.は認められなくなり，抽出液を凍結した場合にも肉を凍結したと同様イカ肉は魚肉に較べて凍結に対する安定性が大きいことがわかる。

Table 5 S.B. in frozen extracts
凍結抽出液の S.B.

Days storage at −15°C 凍結日数（−15°C）			1	3	5	7
KCl extracts KCl 抽出液	コ イ	Carp	−	−	−	−
	トビウオ	Flying fish	−	−	−	−
	スルメイカ	Squid I	+	+	+	−
	ヤリイカ	Squid II	+	+	+	−
H_2O* extracts 水抽出液	スルメイカ	Squid I	−	−	−	−
	ヤリイカ	Squid II	−	−	−	−

* A large amount of precipitate formes in defrosted H_2O extract.

イカ肉の H_2O 抽出液は KCl 抽出液にくらべて加熱に対する安定性は，はるかに高いことを認めたが，H_2O 抽出液を凍結すると1日凍結しただけでも多量の不溶性凝集物が出来，S. B.は認められない。すなわち凍結に対しては加熱とは逆に KCl 抽出液の方が水抽出液よりも安定ということになる。

Snow[3]) によれば sol の状態の actomyosin は gel の状態の場合よりも凍結による変性をうけにくい。このようなことや上記の魚肉でも水抽出残渣の懸濁液は S.B を示すこと，及び軟体動物肉の水抽出液のS.B.の耐熱性は KCl の添加によつて KCl 抽出液と同じにまで低下することと考え合せると，イカ等軟体動物肉の水抽出液中では actomyosin は溶解しているというよりも，幾つかの actomyosin 分子が micelle のような形（KCl で解離される）をして懸濁に近い状態で存在しており，かゝる状態であるため加熱に対しては安定であり，逆に凍結に対しては不安定であるという考え方も出来るように思われる。

摘　　要

1. 魚介肉の Kcl 抽出液は一般に S.B. を示すが軟体動物肉の水抽出液にも極めて強い S.B. がみとめられる。

2. 軟体動物肉の水抽出液は 70〜80°C で数分間加熱しても S.B を失わず KCl 抽出液にくらべ耐熱性

* 長期間凍結した肉抽出液は S.B.を示すが，抽出されないで膨潤する蛋白の量が多くなつてくる。

が非常に大きい。しかし水抽出液に KCl を加えれば KCl 抽出液と同じ安定度にまで低下する。また凍結した場合には KCl 抽出液よりも早く S.B.を消失する。

3. イカの KCl 抽出液を 50°C に加熱しても S.B.が認められるのに対し，他の魚介肉の抽出液は 45°C 以上に加熱すれば S.B.を消失する。また肉を加熱した場合にもイカ肉は魚肉よりも耐熱性が大きい。

4. イカ肉の S.B.は他の魚介肉にくらべて凍結に対しても安定である。

5. 軟体動物の水抽出液中では actomyosin が溶解というよりも懸濁に近い状態で存在しているのではあるまいか。

終りに本研究に対し御助言をいただいた右田正男先生に心から謝意を表する。

文　　献

1) 最近の流動複屈折の綜説には，
J. T. Edsall: Advances in Colloid Science 1 269, (1942)
R. Cerf & H. A. Scheraga: *Chemical Reviews* 51 185, (1952)
2) J. T. Edsall & J. W. Mehl: *J. Biol. Chem.* 133 409, (1940)
3) O. Snellman & X. Bjornstahl: *Kolloid Beihelfte* 52 403, (1941)
4) 松本重一郎：日本水産学会関東支部例会講演（1954，5 月）
5) 岡田稔，多田節子：日本水産学会誌 19 178 (1953)
6) 岡田稔：未発表
7) 須山三千三：日本水産学会誌 17 135, (1952)
8) J. M. Snow: *J. Fish. Res. Bd. Can.* 7 599, (1950)

On the Nature of the Streaming Birefringence Observed in the Aqueous Extracts of Squid Muscle—I. An Anomalous Component in the Aqueous Extracts of Squid Muscle

Masao MIGITA and Juichiro J. MATSUMOTO
(Tokai Regional Fisheries Research Laboratory)

OKADA and TADA (1954)[1] in the authors' laboratory, have reported that a marked streaming birefringence (SB) is observed in the aqueous extracts of squid muscle. Many investigations have been made on SB of muscle extracts since the study by VON MURALT and EDSALL (1930)[2] on rabbit muscle myosin. However, SB of muscle extracts has been studied only in salt extractions (ionic strength 0.5~1.5) because it is generally believed that "myosin" is the only muscle protein which produce SB and it has a very low solubility in water or in dilute salt solutions.

What is then responsible for the SB observed in aqueous extracts of squid muscle? It may be due to the presence of something streaming birefringent and soluble in water or in very dilute salt solutions; or it may be due to the dissolution of myosins in aqueous extracts for some unknown reasons.

In order to clear up these questions, proteins of aqueous extacts of squid muscle, especially presence of "myosins"* in those aqueous extracts were examined with reference to the appearance of SB.

EXPERIMENTAL

(A) *Methods*

Fish samples. The animals studied were as follows: Squid (surumeika), *Ommastrephes sloani pacificus*; carp (koi), *Cyprinus carpio*; flat fish (hirame), *Paralichthys olivaceus* (TEMMINK & SCHLEGEL) and horse mackerel (maaji), *Trachurus japonicus* (TEMMINK & SCHLEGEL). All the samples employed were obtained from the Central Fish Market of Tokyo. When they were arrived at the laboratory, they were fresh and some were alive.

In the case of squid, a piece of muscle was cut from the mantle after removing the outer two of the four layers of skin. In fishes, the dorsal muscle was cut off, taking care not to conta-

Received November 12, 1954.

Contribution B No. 182, from the Tokai Regional Fisheries Research laboratory.

* In the present paper the word "myosins" was used in order to imply the unfractionated mixture of myosin homologues which includes the myosin proper or L-myosin as well as actomyosin.

minate it with red muscle. The piece of muscle was minced with knife, ground in mortar, and then the proteins were extracted.

Total proteins. From 1 g. minced muscle, the proteins were fixed and washed with trichloroacetic acid solution, keeping the concentration at 5 per cent throughout the experiment. The precipitate thus obtained was analysed for nitrogen by the semimicro-KJELDAHL method.

Determination of proteins in solution. Either the KJELDAHL method and/or the biuret colorimetric method was used. In the former, the proteins in solution were fixed with trichloroacetic acid; in the latter, a biuret reagent devised by one of the authors (MATSUMOTO and KANENITSU, 1954)[3] improving that of SOLS (1947)[4] was used. The reagent, containing 0.4 % $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 10 % NaOH, and 0.3 % glycerol, was added to an equal volume of the sample solution. After standing for 3 or more hours, the mixture was filtered through a glass filter, and then the absorption at 545 mμ was estimated spectrophotometrically.

Extraction. Minced muscle was mixed with the cooled solvent for ten minutes by use of a hand-made blendor (2,500~4,000 r.p.m.), which was equipped with an insulating disc placed beneath the surface of the liquid for the purpose of preventing the denaturation of proteins due to froth formation.

Streaming birefringence. An apparatus reported by OKADA and TADA (1954)[1] was used for detection and comparison of SB. This apparatus is composed of a pair of crossed nicols 20 mm. in diameter, and a rotary bench on which a small beacker containing the sample liquid is placed. Although it was originally devised for qualitative purpose, the authors succeeded in comparing the relative intensity of SB semi-quantitatively by observing the patterns of SB; the patterns were classified into the following four stages:

+ ; a distinct cross appears.

± ; bright and dark areas are moving like a cluster of clouds, but do not form into a distinct cross.

$\overset{+}{=}$; the clouds are very faint.

− ; the field remains dark.

The intensity of the sample solution was represented by the minimum concentration which will produce each stage of above patterns. Thus the minimum concentration which produced + was determined, and other stages were obtained by twofold serial dilutions, and then the values which produced + were compared with each other. If SB of the original solution was not so strong that it did not give SB pattern of + stage, the concentration for ± was adopted for comparison: if the data for ± was also inavailable, the same treatment was performed on the concentration for $\overset{+}{=}$. The intensity of SB is inversely related to the minimum concentration which produces any stage of the three patterns of SB.

(B) *Streaming Birefringence of the Aqueous Extracts in Repeated Extractions with Water*

When squid muscle was extracted repeatedly with distilled water, 2~20 times the weight of the muscle, it was found that the intensity of SB of each extract varied as the extraction was repeated. The first extract showed no or slight SB, the

second and the third showed it very markedly, and the following extracts decreased in SB in proportion to the concentration of the extracted proteins (Table 1 and Fig. 1).

Table 1. The amounts of extracted muscle proteins by repeated extractions with distilled water

(*a*) *Squid**

Extracts	SB	Extracted proteins		Appearance of precipitate
		mg. Pr**. /ml.	% per total proteins	
S_1***	—	1.83	22.5	White compact mass
S_2	±	1.09	14.3	Translucent paste (C-phase) covered the precipitate and a part of it (D-phase) flowed out on decantation
S_3	+	0.79	8.7_4	
S_4	+	0.56	6.6_7	
S_5	+	0.20	2.2_3	Translucent paste did not flow out
S_6	—	0.06	0.8_2	White compact mass
Total extracted			55.3	

* pH 6.4; total proteins, 153 mg./g. muscle; protein-N/total-N, 70.8 per cent; date, November 16, 1953.

** Pr.; protein.

*** For the notations see Fig. 1.

(*b*) *Carp**

Extracts	SB	Extracted proteins		Appearance of precipitate
		mg. Pr. /ml.	% per total proteins	
S_1	—	1.79	19.1	White compact mass
S_2	—	0.46_2	4.3_6	Few ml. of white fluid suspension (D—phase) covered the surface of the precipitate
S_3	—	0.16_2	1.7_8	
S_4	—	0.13_1	1.5_7	
S_5	—	0.05_6	0.6_9	Compact mass
Total extracted			27.5	

* pH 6.8; ♀; total proteins, 177 mg./g. muscle; protein-N/total-N, 89.7 per cent; date, December 21, 1953.

(*c*) *Horse mackerel**

Extracts	SB	Extracted proteins		Appearance of precipitate
		mg. Pr. /ml.	% per total proteins	
S_1	—	1.27	15.5	White compact mass
S_2	—	0.26_9	3.1_4	
S_3	—	0.013	1.5_2	
S_4	—	0.018	2.1_2	
Total extracted			22.3	

* pH 6.1; total proteins, 170 mg./g. muscle; protein-N/total-N, 79.0 per cent; date, May 18, 1954.

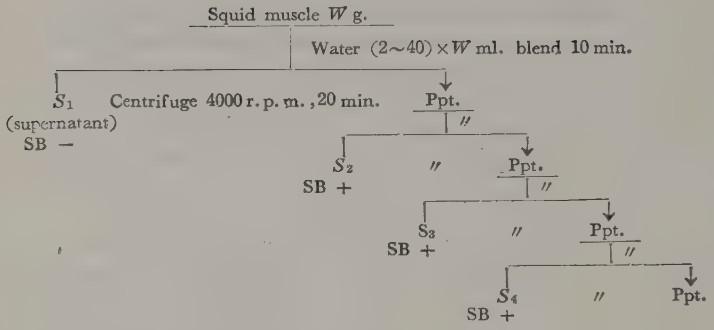


Fig. 1. SB of the extracts of the repeated extractions of squid muscle with water.

Also a difference in appearance after centrifugation was found between the first extract and the following ones. The first extract clearly separated into a liquid at the top (A-phase) and a compact precipitate at the bottom of the tube (B-phnse). In the second and the following extracts, a translucent plastic paste (C-phase) was formed between the precipitate and the liquid. An upper part of this intermediate layer was apt to pass gradually into a dense suspension (D-phase) which flowed out on decantation together with the last part of the supernatant.* The apparent volume of the pasty layer decreased in the process of repeated extractions. It is interesting to note that the aqueous suspension of the intermediate layer, which formed an opaque liquid, gave a marked SB.

(C) *Protein Contents in the Repeated Extractions with Water*

When the squid muscle was washed repeatedly with water, 20~40 times the weight of the muscle as shown in Fig. 1, the amount of proteins in each extract varied as shown in Table 1. The total extractible proteins amounted to as much as 53 to 55.5 per cent of the total muscle proteins which was unexpectedly high, while in carp and horse mackerel muscle the total extractible proteins were 27.5 and 22.3 per cent respectively of the total muscle proteins.

It is noteworthy that although the supernatant of aqueous extracts of carp or horse mackerel muscle showed no SB, the precipitates or residues did if they were mixed into an unstable aqueous suspension by stirring up the contents of the tube with a glass rod; or, when the centrifugation was incomplete, we could observe SB. This may suggest that the fraction present in the aqueous extract of squid muscle and responsible for SB might be related to myosins.

* For the sake of convenience in study, the notations, A-, B-, C-, and D-phase, were given to these phases.

(D) *Extractions with Varying Volumes of Water*

Squid muscle was extracted with water, wherein the ratio of the water to the muscle was varied from 2.5 to 160 times the weight of muscle. From the protein concentration and the volume of the supernatant after centrifugation, the amount of the extracted proteins per total muscle proteins was determined. The value was found to increase as the ratio of water/muscle weight increased. When the ratio of water/muscle weight reached 5～2.5, 10 per cent of the total proteins were extracted, and below this ratio the per cent of extracted proteins did not seem to decrease.

In the case of muscle of flat fish or of horse mackerel, the amounts of extracted proteins did not vary widely with the change of the ratio of water/muscle, and SB was never detected (Fig. 2). In squid muscle, extracted proteins increased steadily with the increasing ratio of extracting water to muscle, while the minimum concentration for the detectable SB was found to decrease, that is, the intensity of SB increased as the ratio of water to muscle was raised (Table 2).

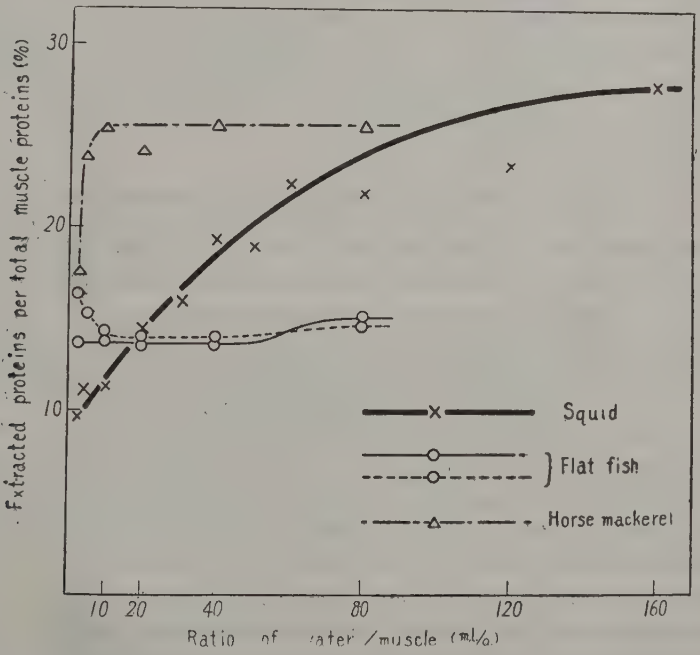


Fig. 2. The variation of the amount of extracted proteins to the ratio of extracting water to muscle.

pH of the muscle; squid, pH 6.2; flat fish, pH 6.4 (in both cases); horse mackerel, pH 6.4.

Total proteins in muscle: squid, 155 mg. Pr./g. muscle; flat fish, 204 and 197 mg. Pr./g. muscle; horse mackerel, 173 mg. Pr./g. muscle

Date of experiment: squid, Oct. 15, 1953; flat fish, Oct. 10, 1953 and April 13, 1954; horse mackerel, Sept. 28, 1952.

*Table 2. The change in the relative intensity of SB of aqueous extracts of squid muscle with increasing ratio of extracting water to muscle**

	Water/muscle	5	20	40	100
Extracted Pr./total Pr. (%)		18.0	21.9	24.6	30.0
Original extract.	mg. Pr./ml.	5.44	1.73	0.99	0.53
	SB	±	±	±	+
Diluted solutions	Minimum concn.** for SB +				0.53
	〃 〃 ±	5.4	1.7	0.50	0.13
	〃 〃 ∓	1.4	0.87	0.26	0.07

* pH 6.4; total proteins, 150 mg./g. muscle; date February 26, 1954.

** The concentrations are represented by mg. Pr./ml.

In view of these facts, the authors were led to the following opinion. The water-extractible proteins of squid muscle might be, in a rough measure, divided into two fractions, the first of which is readily soluble in water but does not show SB like the water extractible fraction of teleosts and mammals, and the second fraction, which may occupy the most part of the second or the following extracts, is less soluble than the first fraction, and shows SB and may be the very fraction responsible for the characteristic of squid muscle.

(*E*) *The Amounts of Non-Myosins in Squid Muscle*

Salt solution extracts of muscle proteins were fractionated into "myosins" and "non-myosins" by the following method based upon a scheme* developed by DYER et al.[5] in 1950 (Table 3). Although it is not yet concretely proved that the structural globulins of squid muscle is identical with myosins of mammalian and fish muscles, the fraction which precipitated from salt extracts on dilution was difined here as "myosins" and the supernatant fraction as "non-myosins".

Ten gram minced muscle was extracted for 10 minutes with 200 ml. of cold KCl solution of 1.0 ionic strength buffered with 0.03 M $KHCO_3$ or with phosphates* to pH 7.2～7.5 and centrifuged. The extracts was then diluted to the ionic strength of 0.05 (or 0.1) and pH of the diluted extract was adjusted approximately to pH 6.5. After 4～20 hour cold storage myosins are centrifuged off from the extract.

Some discrepancies did existed upon repeated measurments, but the amounts of non-myosins of flat fish, horse mackerel, and carp muscle were found to be approximately the same amount as water-extractible muscle proteins of the respective fishes, while in squid muscle the amount of non-myosins was as little as one fifth to one

* This method was adopted for the sake of convenience, since a number of different methods are recommended in literature on this subject, and because the values obtained by the method here chosen were in close agreement for different samples of each species.

Table 3. The amount of non-myosins of squid muscle and some teleost muscles determined by precipitating myosins in the salt solution extracts

Species	Non-Myosins (% per total Pr.)	Condition of precipitation			Sample muscle		
		pH	Ionic strength	Salt	pH	Total proteins, mg. Pr./g.	Date
Squid	17.1	7.1	0.05	KCl-$KHCO_3$	6.8	167	Oct. 26, '53
	9.6	7.3	0.1	KCl-$KHCO_3$	6.1	144	Nov. 27, '53
Flat fish	18.3	7.4	0.05	KCl-$KHCO_3$	6.4	197	Apr. 14, '54
	24.2 †	6.5	0.05	KCl-phosphate	6.4	197	July 5, '54
Horse mackerel	23.2 †	7.2	0.05	KCl-$KHCO_3$	6.1	170	May 18, '54
	21.3	6.5	0.05	KCl-phosphate	6.1	173	July 8, '54
Carp	30.1	7.2	0.05	KCl-$KHCO_3$	7.2	178	June 1, '54
	23.8		0.09	NaCl-$NaHCO_3$	6.9	177	Oct. 9, '53
	23.2~24.5	6.5	0.05	KCl-phosphate	6.8	166	June 28, '54

The true amount of non-myosins in each case would be slightly lower than these figure since myosins remaining in diluted solutions are not taken into account.

† An approximate determination of water extracted proteins of the same muscle gave the value of 23.2% in flat fish, and 20.3% in horse mackerel.

third of the maximum amount of water-extractible proteins obtained by repeated extractions.

Therefore, we may conclude that squid muscle myosins, which have the property of SB and are highly soluble in the concentrated salt solution, dissolve considerably into the aqueous extracts.

(F) Dialysis of Aqueous Extracts of Squid Muscle

In order to seperate the protein producing SB, the first and the second aqueous extracts of the repeated extractions were dialysed separately against distilled water.

The cellophane film available in the market was used. The volume of the outer liquid was 20~40 times the volume of sample liquid, renewed four to six times in 24 hours, and kept at 4~7°C. The extracts were then centrifuged.

A part of proteins in the extracts was laid down whereas the control samples left standing for the equal period gave but slight precipitate on centrifugation (Table 4).

Now it would be rightly said, that the components of the aqueous extracts of squid muscle can be roughly divided into two fractions: albumins and a fraction depositing on dialysis.

It is probable that the former fraction is the truely water-soluble one, while

* The KCl-phosphate extractant was composed of KCl solution of 0.85 ionic strength and phosphate buffer of 0.15 ionic strength (pH 7.2~7.3).

*Table 4. Dialysis of the aqueous extracts of squid muscle**

	Extract	Before dialysis	After dialysis	Control**
Concentration † (mg. Pr. /ml.)	S_1	1.14 (±)	0.82 (±)	1.03 (±) ††
	S_2	0.64 (+)	0.10_6 (±)	0.43 (+)
Soluble proteins per total muscle proteins (%)	S_1	16.5	11.6	14.3
	S_2	9.6	1.6	6.1
	S_1+S_2	26.7	13.2	20.4

* pH 6.1; total muscle protein, 132 mg. Pr. /g. muscle; protein-N/total-N, 69.1%; date, Feburary 23, 1954.

** Supernatant obtained by centrifuging the same extract after standing for the equal duration with that of dialysis.

† The correction was given for the change of volumes during the dialysis.

†† The signs in the parentheses denote the intensity of SB.

most of the latter fraction may be composed of another protein, the solubility of which varied depending on the extracting conditions as shown in Table 1 and Fig. 2.

It is interesting that after dialysis the amount of proteins remaining in solution per total muscle proteins (13.2 %) was close to the level of non-myosins (9.6~17.1 %). In addition, SB of the supernatant of the second extract became less marked after dialysis and centrifugation, and the precipitate formed by centrifugation showed an intense SB when it was suspended in distilled water.

By similarly treating the precipitate from the first extract which failed as usual to show SB, the presence of SB could not be detected.

(G) *The Solubility of Water-Extractible Proteins of Squid Muscle in Solutions with Different Concentrations of KCl*

When a series of the aqueous extracts of squid muscle was mixed with KCl solutions of different concentrations* and then centrifuged after standing in cool place for about 20 hours, it was found that varying amounts of the proteins were deposited, as shown in Fig. 3.

It is instructive to find that the curves for the second or the third extract (Curves B and C) reveal that the solubility of the proteins as well as SB in the supernatant fell to a minimum value at the ionic strength of 0.05~0.1, increasing again as the ionic strength was raised. These curves resemble the solubility curve of "the crystalline myosin" or "myosin A"** of SZENT-GYÖRGYI (1947)[6]. On the other hand protein which precipitated at the ionic strength of 0.03~0.2 showed a marked SB when suspended in water.

These facts would offer a strong support to the assumption that it might be

* The final protein concentration was kept constant.

** Generally reffered to "myosin proper" in recent papers.

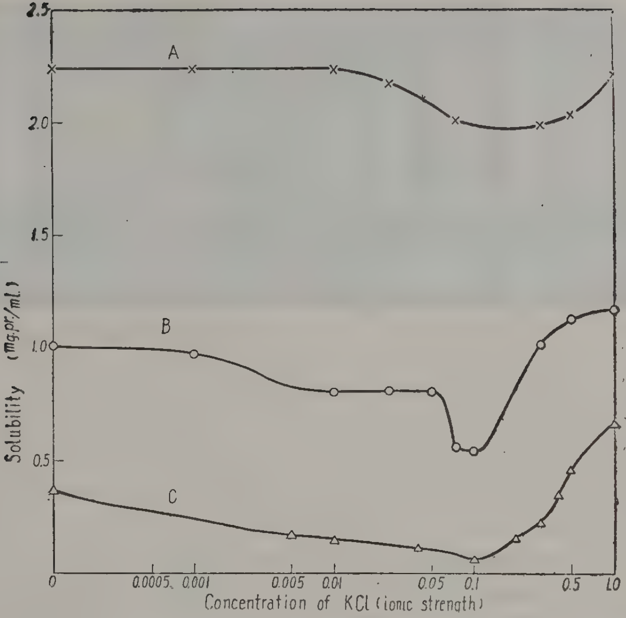


Fig. 3. The change in solubility of the water extracted proteins of squid muscle with increasing concentrations of KCl.

Curve A : the first extract (S_1) of squid, *Ommastrephes sloani pacificus*, containing 19.9% of total muscle proteins.

Curve B : the second extract (S_2) of the same sample containing 9.5% of total muscle proteins.

Curve C : the mixture of the third (S_3) and the fourth (S_4) extracts of squid (yariika), *Loligo bleekeri*, containing 15.8% of total muscle proteins.

pH value of the supernatant after centrifugation : A, ~6.4 ; B, 6.5~6.7 ; C, 6.7~7.0.

pH of muscle : A and B, 6.4 ; C, 6.1.

Date : A and B, July 19, 1954 ; C, March 30, 1954.

myosin proper which is responsible for SB in the aqueous extracts of squid muscle.

According to H. H. WEBER and PORTZEHL (1952)[7] myosin proper or L-myosin does *not dissolve in water* but only *disperses into a colloidal suspension* by taking up water and swelling due to the DONNAN effects. This seems to be in agreement with the observations in the present experiment that the precipitate in 0 ionic strength solution was more transparent and voluminous than the precipitates in a solution of an ionic stnength of 0.005 or more, and that the turbidities of the supernatant liquids corresponding to the points on the left side of the minimum point in the curves were more intense than those on the right side (Fig. 4).

The presence of myosin proper in aqueous extracts was thus suggested. *Actomyosin* also should no bet neglected, since the concentration of proteins remaining in

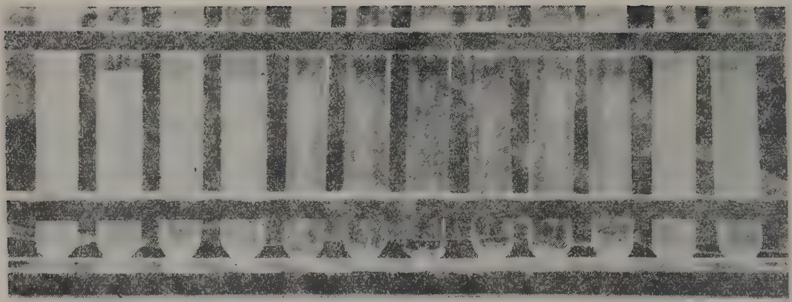


Fig. 4. The change in turbidity of the supernatant after centrifugation of a squid extract † mixed with varying amounts of KCl.
From left, original extract, control (0.000), 0.001, 0.0025, 0.005, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.50, and 1.0 ionic strength.
Protein concentration in each tube, 0.5 mg. Pr/ml.; pH of muscle, 6.3; date, January 6, 1954.
† The third extract of the repeated extractions with water 10 times the weight of the muscle.

solution did not stop increasing when the ionic strength was raised beyond 0.3.

In curve A of Fig. 4 there existed only a shallow depression, and at this point here remained a considerable amount of protein in solution. This may suggest that most of the first aqueous extract is composed of non-myosins which does not show SB.

DISCUSSION

i) It was reported by SNELLMAN and BJÖRNSTÅHL (1941)[8] that hemocyanin of mollusks shows SB. However, since native hemocyanin molecule is not longtudinal but rather globular* and hemocyanin content** of squid muscle is very low (1.5 % of total musole protens), the contribution of hemocyanin molecule to the SB observed by the primitive apparatus here employed would be left out of consideration.

ii) It is noteworthy that, among a number of the extracts of the fish muscle with salt solutions, there were found some exceptional cases that failed to show SB, while SB in salt solution of squid muscle was very intense and *never* failed to be detectable.

* The axial ratio of the hemocyanin molecule of various animals is 2.3~7.3 for the native state and 14.4~18.5 for the dissociation components (see MIZUSHIMA and SHIMANOUCHI, 1949)[11], while it is 100 for myosin proper and 50~250 for natural actomyosin (see WEBER and PORTZEHL, 1952)[12].

** Copper in squid muscle: 5.6 mg./kg. (HATAGOSHI, 1941)[9]: Cu content of hemocyanin, 0.24~0.26 % for squid, *Loligo*, and other mollusks (HERNLER and PHILIPPI, 1933)[10].

iii) The reason why the myosins of squid muscle can *disperse* into the aqueous suspension remains obscure. It is said that the muscles of mollusks are composed of smooth muscles, and recent papers report that the myosins contained in the smooth muscle of some vertebrates are distinct in several properties from the myosins of the skeletal muscles (see DUBUISSION, 1952)[13].

Moreover TANAKA (1954)[14] in the authors' laboratory found that the tissue structure of squid muscle is very specific and less organized than the skeletal muscles of fishes.

In fact, the most part of the precipitates of teleost muscles formed after extraction by water and centrifugation were, usually, rather coarse to the touch, while the precipitates of squid muscle were soft and pasty.

Further experiments are nesessary to decide whether the above discrepancies are due to the characteristics of myosins themselves or to the tissue structure.

iv) Streaming birefringence in aqueous extracts was observed not only in the muscle of many kinds of squid, but also in the muscle of mollusks such as small clams, abalone and snail, and so far as the authors' experiences, it seems that this characteristic phenomenon *is common to the mollusks*. SB was also observed in aqueous extracts of sea cucumber, though it has not yet been decided whether it is attributable to the same cause.

v) The present opinion, that the proteins in question are myosin proper and actomyosin, is based mostly on their solubility characteristics and the marked SB.

By the use of modern techniques, further evidence and more detailed information should be obtained before any definite conclusion can be reached.

SUMMARY

1) When squid muscle were repeatedly extracted with 2~20 times the amount of water, streaming birefringence (SB) was observed in the second and the following extracts (Fig. 1).

2) When squid muscle were extracted repeatedly the total amount of proteins passing into solution amounted to 55.5 per cent of total proteins. In carp and horse mackerel muscle, however, the total extractible proteins was not so much beyond the amount of non-myosins which was to be expected from the literature on the subject (Table 1).

3) The amount of water soluble proteins of squid muscle increased with the increase of the ratio of extracting water to muscle, while those of flat fish and horse mackerel muscle attained a constant value with the increasing ratio (Fig. 2).

4) In squid, the amount of non-myosins was as small as one fifth to one third of the water extractible fraction, while in flat fish, horse mackerel, and carp, the amount of non-myosins were found to coincide roughly with that of the water extra-

ctible fraction (Tables 1 and 2).

5) If the aqueous extracts of squid muscle were dialysed against distilled water, some of the proteins precipitated on centrifugation. The precipitate from the second extract showed SB if it was mixed into an aqueous suspension, while the precipitate of the first extract did not.

6) Some of the proteins precipitated out if KCl was added to aqueous extracts of squid muscle so as to make up mixtures of varying ionic strengths ranging from 0.0005 to 1.0. The relationship of solubility to ionic strength seems to suggest the presence of both myosin proper and actomyosin in the aqueous extracts (Figs. 3 and 4).

7) In view of these facts it was suggested that in the case of squid muscle, myosin might be dispersed into the aqueous suspension and give rise to the characteristic SB.

The authors wish to express their gratitude to Miss Tomiko ARAI and Mr. Yoshio ISHINO for their devoted assistance in the experimental work.

The authors thank Mrs. Dorothy GILNER who has kindly consented to read over the manuscript.

REFERENCES

1) M. OKADA and S. TADA, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **20**, 224—231 (1954).
2) A. L. VON MURALT and J. T. EDSALL, *J. Biol. Chem.*, **89**, 322 (1930).
3) J. J. MATSUMOTO and T. KANEMITSU (1954), unpublished.
4) A. SOLS, *Nature*, **160**, 89 (1947).
5) W. T. DYER, H. V. FRENCH and J. M. SNOW, *J. Fish. Res. Bd. Canada*, **7**, 585—593 (1950).
6) A. SZENT GYÖRGYI, "Chemistry of Muscular Contraction", Academic Press, New York (1947), 4.
7) H. H. WEBER and H. PORTZEHL, "Advanc. in Protein Chem.," **7**, Academic Press, New York (1952), 197.
8) O. SNELLMAN and Y. BJÖRNSTÅHL, *Kolloid Beihefte*, **52**, 403 (1941).
9) Y. HATAGOSHI, *J. Agr. Chem. Soc. Jap.* **17**, 101—106 (1941).
10) F. HERNLER and E. PHILIPPI, *Z. physiol. Chem.* **216**, 110 (1933), quoted in T. OYA, "Chemistry of Mollusks" (in Japanese), Koseikaku, Tokyo (1934), 90—91.
11) S. MIZUSHIMA and T. SHIMANOUCHI, "Structure of Proteins" (in Japanese), Gakujutsu Tosho, Tokyo (1949), 184—191.
12) H. H. WEBER and H. PORTZEHL, *ibid.* (1952), 208.
13) M. DUBUISSON, "Annual Rept. of Biochem.". **21**, Stanford Univ. P.O. California (1952), 400.
14) T. TANAKA (1954), unpublished.

濾紙クロマトグラフによる蛋白質中の酸性アミノ酸の定量について*

松本重一郎・石野芳雄**・新井とみ子
（東海区水産研究所）

A Quantitative Paper-Chromatography of Acidic Amino-Acids

Juichiro J. MATSUMOTO, Yoshio ISHINO and Tomiko ARAI

The content of the acidic amino-acids has much importance upon the physico-chemical properties of the protein because the number of the anionic groups depends largely on the content of the acidic residues. The present report describes the paper-chromatographic method for determining the acidic amino-acid contents, some critical experiments on its details, and the discussion of the results obtained by the application of this method to some proteins.

The hydrolized samples are put on a horizontal starting line on a filter paper, side by side with the known quantities of the acidic amino-acid solutions, and the spots are chromatographed upward simultaneously by aqueous phenol. after dried, the paper is sprayed with ninhydrin solution, the coloured spots being developed by heating the filter paper in 90—100°C. atmosphere saturated with steam. The spots of the acidic amino-acids are cut off and the colour of each spot is eluted out with 50 % ethanol and evaluated electrophotometrically at 570 mμ. The content in the sample solution is obtained by the aid of the standard curves of the known solutions chromatographed on the same falter papen.

For coloration of the spots, the a reasonable period of heating was 7.5—10 minutes (Fig. 1); the colour increased linearly with the quantity of the amino-acids between 10—60 μg. per spot (Fig. 2); the mean recovery, including from the hydrolysis to the last process of the method, was 96.5 % for aspartic acid, and 100.9 % for glutamic acid respectively. The values obtained by analyzing gelatin by the present method were in good agreement with the data reported previously (Table 1). However, the values of glutamic acid in the muscle preparations of some marine animals were slightly higher than those of the same preparations obtained with microbiologicalassay by SUGIMURA et al. (Tables 2 & 3).

グルタミン酸とアスパラギン酸の2つの酸性アミノ酸は蛋白質分子の中にあつて負の極性基をつくる主な残基となるから，蛋白構造論の立場からみて酸性アミノ酸の定量は重要である。その分析法はいろいろ報告されているが，私たちはこれらをなるべく簡易に定量したいと考えた。濾紙分配クロマトグラフは比較的に簡便である上，当の2つの酸性アミノ酸はその Rf が低く，他のアミノ酸から分離され易いので，下記の如く一次元展開によつてこれらを分離定量する方法を採用した。本報ではこの定量条件について必要な吟味を行い，この方法がどの程度まで所期の目的に役立つかを検討した。

実　験

I. 定　量　法***

イ）加水分解液の調製　乾燥蛋白試料を 20～40 倍量の 6 N HCl により常圧下砂皿上で 40 時間加水分

1955 年 3 月 18 日 受理　東海区水産研究所業績第 200 号（印刷費負担）
* 1952 年 9 月 27 日　日本水産学会函館大会にて講演，
** 現所属　日本衛材株式会社
*** 濾紙クロマトグラフについては，谷，佐竹（1950）[1]，佐竹（1952）[2]，及び THOMPSON ら（1951）[3] に学んだ。

痒し，次に減圧蒸溜をくりかえして HCl を駆出し，水にとかし，pH 9 に合せて後全量を定容（もとの蛋白として 0.5 % となる割合）とする。

ロ）展開　　東洋濾紙 No. 50（40×40 cm）の下端より 4 cm の距離にひいた平行線上に検体及び両酸性アミノ酸を含む標準溶液（両アミノ酸を夫々 80 mg % づつ，又は 160 mg % づつ含む）を交互につけ，濾紙を筒型に巻き，下端を溶媒につけ，溶媒の前端が濾紙の上端に達するまで展開する。溶媒には phenol- 水混合液（100 ： 24）を用い，一スポット当りの試料溶液は 0.02 又は 0.04 ml（酸性アミノ酸の一方につき 10～50 μg づつ）とする。展開時間は温度により異り，15～30 時間であつた。

ハ）発色　　濾紙を自然通風によつて乾燥後 1 % ninhydrin 溶液（水飽和 butanol に溶す）を濾紙の両面から吹きつけ（0.03 ml/cm² の割合），予め 90～100°C で水蒸気を飽和させた恒温器に入れ，10 分間加熱して発色させる。実験の都合によつては展開の後乾燥した濾紙を冷凍室に保存したが，結果には差が認められなかつた。

ニ）抽出　　濾紙上でアミノ酸のスポットが発色すると縦方向に一列に展開された検体中の各種アミノ酸のうち，アスパラギン酸とグルタミン酸のスポットの位置は同一紙面上の標準溶液のそれらと比べることにより Rf の値* にとらわれることなく定めることができる。かくて検体及び標準溶液のつくるアスパラギン酸及びグルタミン酸のすべてのスポットを別々に，各々等面積（ふつう 2 cm²）となるように切りとり，試験管に入れ，50 % ethanol 5 ml により 30 分ずつ 2 回抽出し，抽出液を合せる。（この溶液の色は抽出後 3 時間まで安定であつた。）尚ブランクとしてアミノ酸のスポットの出ていない部分を同様に抽出し，標準曲線を描くときに用いる。

ホ）比色及び計算　　光電光度計を用い 570 mμ** における各抽出液の光学密度を求めた。一枚の濾紙から両アミノ酸の夫々について濃淡 2 種の標準溶液，検体のスポット，及びブランクの抽出液が各々少なくとも 3 本づつえられるから，各々の平均値をとり，標準溶液とブランクとより標準曲線（光学密度――アミノ酸濃度の関係曲線）を描き，検体抽出液の光学密度を図上に当てはめてその中のアミノ酸濃度を求め，原試料中の水分の補正を加えてそのアミノ酸含量を算出する。

II. 定 量 法 の 吟 味

イ）加熱時間　　両アミノ酸の標準溶液を一枚の濾紙上で一斉に展開し，同時に ninhydrin 溶液をふきつけ，スポット毎に加熱時間を変えて発色させたところ Fig. 1 をえた。これによれば 7.5～10 分間で発色

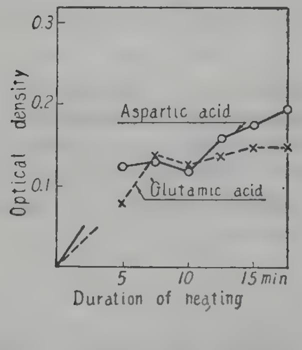


Fig. 1. Effect of heating time on intensity of htedeveloped spot colour.

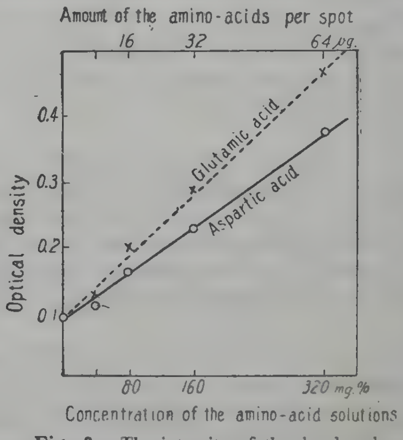


Fig. 2. The intensity of the developed colour and the amount of amino-acids.

* Rf の値は展開温度，原点と溶媒液面との距離等によつてかなり変動したが，アスパラギン酸で 0.08～0.13，グルタミン酸で 0.18～0.33 であつた。

** 吸収極大はこの他 400 mμ にも認められた。

はほゞ安定しているので，加熱時間を 10 分とした。10 分を過ぎると発色は強くなるがアミノ酸のスポットのないブランクの部分の色が濃くなり，Fig. 2 の如き直線がえられ難くなる。

ロ）標準溶液による発色　　種々の濃度のアミノ酸標準液をつくり，同一濾紙上に展開し，型の如く比色したところ Fig. 2 をえた。従つて両アミノ酸の一方が一スポットにつき 10～60 μg の間では発色量はアミノ酸量に正比例することが示された。

ハ）回収実験　　gelatin に一定量のアスパラギン酸及びグルタミン酸を添加し，加水分解にはじまる全操作を経由して後定量したとき，アミノ酸を添加された検体の値と gelatin のみの検体の値との差は，添加されたアミノ酸よりする理論値に対して，アスパラギン酸で 90.2～102.2 %，平均 96.5 %，グルタミン酸で 80.1～110.0 %，平均 100.9 %（いずれも 6 例）であつて，分析をくりかえせばかなり良い定量値を与えることが示された。

III. 応　用　例

イ）**gelatin の分析例**　　この方法によつて市販の食用 gelatin を分析したところ，アスパラギン酸 **7.1** ± 0.26 %，グルタミン酸 11.2 ± 0.30 % となつた（いずれも加水分解例数 3，展開例数 9）。gelatin について文献[1] に示されている分析値は Table 1 の如くであつて，これによれば近年に発達した微生物法と化学的方法は回収率がよいらしく，私たちの分析値も亦これらの値に近いことはこの分析法の妥当さを示していると考えられる。

Table 1. Content of the acidic amino-acids in gelatin.*

Method	Content (g./100 g. gelatin)		Author
	Aspartic acid	Glutamic acid	
Isolation	3.4	5.8	Dunk (1920)
〃	4.8	9.4	Satake (unpublished)
Microbiologica las ay	6.8	11.2	Hac et al. (1945)
Chemical determination	—	10.8	Lewis et al. (1945)
Paper partition chromatography	7.1	11.2	The authors

* Quoted from Tani and Satake (1950)[1].

ロ）イカ肉及び魚肉蛋白試料の分析　　野口ら (1951)[4] 及び岡田ら (1953)[5] によれば，イカ肉蛋白はその等電点が魚肉蛋白よりも低く，その原因は酸性アミノ酸が多いからではないかと考えられる。そこで次の如くイカ肉及び魚肉の乾燥試料を作り，その酸性アミノ酸を定量した。即ち新鮮なスルメイカ，ヤリイカ，マアジ，ヒラメ又はカツオをとり，皮を除き，魚の場合は血合肉を取り去り，肉ひき機にかけ，各 5 倍量の 91～94 % ethanol によりエキスの除去及び脱水を 2 回行い，次いで乾燥 ether で脱水し，残渣を P_2O_5 デ

Table 2. The dehydrated preparations of muscle protein used in the experiment.

Species	Season of catch	Recovery (% of fresh muscle)	Appearance	Moisture %	Nitrogen (% in dry matter)
Ommastrephes sloani pacificus Steenstrup (surume-ika, squid)	May	15.7	White	8.9	16.3
Loligo bleekeri Keferstein (yari-ika, squid)	June	17.8	Brownish white	12.1	14.6
Trachurus japonicus Temmink & Schlegel (ma-aji, horse mackerel)	June	22.5	Yellowish white	5.9	16.1
Paralichthys olivaceus Temmink & Schlegel (hirame, flatfish)	June	23.6	Yellowish white	13.5	17.4
Katsuwonus vagans Lesson (katsuo, skipjack)	June	25.8	Brownish white	5.2	17.6

Table 3. Content of the acidic amino-acids in the muscle protein of some marine animals.

Amino-acid	Species*	Number of hydrolysate	Number of assay	Content (g./100 g. protein) Paper chromatography (the authors)	Microbiological assay (SUGIMURA et al., 1954)[6]
Aspartic acid	Surume-ika, squid	7	11	8.2±0.14	8.7
	Yari-ika, squid	4	5	10.3±0.47	10.3
	Ma-aji, horse mackerel	4	9	10.3±0.37	10.0
	Hirame, flatfish	3	4	9.9±0.73	10.6
	Katsuo, skipjack	3	4	9.5±0.31	10.5
Glutamic acid	Surume-ika, squid	7	11	14.5±0.38	12.0
	Yari-ika, squid	4	5	13.9±0.31	11.5
	Ma-aji, horse mackerel	4	9	13.4±0.46	10.7
	Hirame, flatfish	3	4	15.1±1.26	12.1
	Katsuo, skipjack	3	4	13.7±0.46	10.8

* For scientific names see Table 2.

シケーター中で吸引し，乾燥粉末とする。えられた試料の収率，分析値等は Table 2 の如くであり，その分析結果は Table 3 の通りとなつた。

考　　察

（1） 分析法の精度について　　この方法による分析値には多少変動があるため，Table 3 の中でも分析例の少ないヤリイカ，ヒラメ及びカツオでは信頼度が劣つている。濾紙を乾燥して phenol を飛ばした後の濾紙中の水分が大気中の湿度に影響されることや，発色のための加熱の際に濾紙上の温度分布が均一を欠くことなどは発色の強さの均一化を妨げ，分析値の変動を生ずる一因となつたと考えられる。この実験では簡易法としてあり合せの装置を使つたが，実験条件をよりよく規正するためにより多くの努力を払えば，この分析の精度はなお向上するものと信じられる。いずれにせよ上記の結果をみれば，酸性アミノ酸量の目やすをえる簡易法としてはその用を便ずるものと考えられる。

（2） 微生物法による分析結果との比較　　杉村ら（1954）[6] はこゝに取扱われたものと同一の蛋白試料について微生物法によるアミノ酸組成の広範な且つ精しい分析を行つた。この中両酸性アミノ酸に関する結果は Table 3 に附記した通りである。（原報の N/N % を重量 % に換算した）。これによれば私たちのえた分析値はアスパラギン酸では一般にかなりよく一致し，グルタミン酸では微生物法の値に比し各々 20～30 % づつ多い目に出ている。これは一次元クロマトグラフによつてはグルタミン酸とそれより Rf の少し高い酸例えば dioxyphenyl alanine 又は serine 等との分離が不完全となつたためであるかも知れない。しかしながら，BLOCK（1945）[7] によれば牛肉のアスパラギン酸は 6.0 %（JONES & MADLER，1928）グルタミン酸は 15.4 %，鶏肉のグルタミン酸は 16.5 %（OSBORNE & HEYL，1909，以上3例とも単離法による分析）であり，又松浦ら（1954）[8] によつて行われた微生物法によれば，サバ普通肉，ブリ普通肉，サバ血合肉，ブリ血合肉では夫々順に，アスパラギン酸，11.5 %，11.8 %，9.5 %，11.0 %，グルタミン酸，13.4 %，14.9 % 11.5 %，13.4 % とされているから，こゝにえられた分析値もあながちに大きすぎるとはいえない。最近も TRISTRAM（1953）[9] によつて指摘されている如くアミノ酸の分析法が異ると必ずしも一致した結果を与えない一例と考えられる。

（3） イカ肉と魚肉との等電点の差について　　野口ら（1951）[4] 及び岡田ら（1953）[5] による等電点の見察は全肉（whole muscle）を用いて行われたので，この研究に於ては試みに全肉の乾燥試料の分析を行つた，結果は Table 3 にみられる通り両群の酸性アミノ酸組成には殆ど差が認められなかつた。一方塩基性アミノ酸の組成について文献にみられる VAN SLYKE 法による分析結果（スルメイカ[10]，シリヤケイカ[11]，タイ[12]）に於ても，単離法による魚肉の分析値（BLOCK，1945）[7] に於ても，また杉村ら（1954）[6] の微生物法による結果に於いても，イカ肉では魚肉よりもむしろ多い目に出ている。従つて現在までにえられた知見では上記の

等電点の差を説明できるようなアミノ酸組成の差は認められない。

蛋白質の物理化学的性質とアミノ酸組成を関連づけるためには，精製された蛋白試料を用いることが要求されているので，こゝにえられた全肉試料の間に酸性アミノ酸組成の差の認められないことをもつて，直ちに等電点の差の原因はアミノ酸組成の差に関係がないと断言することはできない。

要　約

(1) 蛋白中の酸性アミノ酸を一次元濾紙クロマトグラフによつて定量することを試みた。

(2) 分析法は同一濾紙上に於いて検体溶液と標準溶液とを平行的に同時に展開，発色せしめ，それを50% ethanol で抽出し，比色定量することを骨子とする。発色の強さとアミノ酸量の関係の直線性，分析の回収率等について分析法に若干の吟味を加えた (Fig. 1 & 2)。

(3) この方法を用い gelatin 及びイカその他の水産動物の乾燥試料を分析した。前者の分析値は他の分析法によりえられた既往の分析値の中の一部とよく一致し，又後者の分析値は同一の試料についてえられた微生物法による結果とアスパラギン酸ではよく一致し，グルタミン酸では多い目に出た(Table 1, 2 & 3)。

この研究の間終始御指導を賜つた右田正男先生に厚く御礼を申上げる。

文　献

1) 谷　久也，佐竹一夫："高分子化学展望" 第Ⅱ集，高分子化学協会，東京 (1950)，1～68.

2) 佐竹一夫，"クロマトグラフ"，共立社，東京 (1952) PP. 245.

3) J. F. Thompson, M. Zacharius and F. C. Steward : *Plant Physiol.*, **25**, 375～397 (1951).

4) 野口栄三郎，木崎五一，西田よう子：日水会誌，**16** (12)，25～28 (1951).

5) 岡田　稔，多田節子：日水会誌，**19**，173～183 (1953).

6) 杉村敬一郎，他4名：日水会誌，**20**，520～524 (1954).

7) R. T. Block : "Advanc. in Protein Chem." Vol. Ⅱ. Academic Press, New York (1945), 119～134.

8) 松浦文雄，鴻巣章三：日水会誌，**20**，941～945 (1955).

9) G. R. Tristram : "The Protein", Vol. I, Part A, Academic Press, New York, (1953). 181～233.

10) 北林邦次，中村邦典，首藤勝夫：北水試月報，**9** (3)，44～51 (1952).

11) 波多腰ヤス：農化，**14**，1413～1422 (1938).

12) 〃 ：日化，**53**，824～833 (1932).

イカ煮熟肉の"かたさ"について

高橋豊雄・竹井　誠
（東海区水産研究所）

On the Toughness of Boiled Squid Meat

Toyo-o TAKAHASHI and Makoto TAKEI

Squid (*Ommastrephes sloani pacificus*) is one of the important sources of protein for Japanese, and the meat is often served in a boiled form. Despite the fact, however, the cooked meat is peculiarly tough for chewing. The authors tried to obtain some knowledge on the character of the boiled meat with an aim at reducing the toughness.

The breaking strength (F), breaking elongation (r), and elongative behavior (E) were taken as the index of toughness. The test pieces were cut out along the muscle fibre (or the minor axis of the body) from the body meat.

F, r, and E of the meat cooked in boiling water for 1 hour were found higher than those of the raw meat (cf. Fig. 1 and Table 2).

As obvious from Fig. 2 and Table 2, when the boiled meat heated in the solutions of various reagents at 100°C. for 1 hour, F and r of the meats decreased, while E increased. A remarkable increase in E was observed on the boiled meat treated with urea (10M) or alkali (pH 10) solution. When the boiled meat was heated at 108～109°C. (about 9 lbs.) for 1 hour in distilled water or in 3.5% NaCl solution, F and r of the meats, in particular the one immersed in water, decreased, but E remained constant in amount, as shown in Fig. 3 and Table 2. By heating the boiled meat in steam at 108～109°C. for 1 hour, F, r, and E remained almost unchanged.

イカ肉を煮ると，著しく収縮し，ゴムのように固くなるが，これはイカにとつて一つの大きな欠点である。著者等は煮熟肉のこのような性質を改善したいと考え，煮熟肉を薬品処理，或るいは加圧・加熱処理等を行い，その"かたさ"の変化を調べた。

イカ煮熟肉が"かたい"といわれるのは，嚙切れ難いということであると思われるが，イカ肉の嚙切れ難さは，主としてイカ肉の硬さ及びその剪断強さに関係するものと思われる。然し，イカ肉の硬さ或るいは剪断強さを測定することは，極めて困難なことである。物質の硬さということは，常識的概念としては，わかつているが，これについて確かな定義は与えられて居らず，従つて，その測定法も一定の原理に基くものがない。然し，或る物質の硬さは，その物質の他の物理的性質と密接な関係をもつものであり，物質によつてはその引張り強さ，圧縮強さ等を知れば，その硬さを或る程度まで推察出来るといわれる。又一般に引張り強さの大なもの程剪断強さは大きい。

これらのことから考えて，イカ肉の場合にも硬さ或るいは剪断強さを測定する代りに，比較的容易に行うことの出来る引張り強さの測定を行い，且つその際に於ける引張り応力と伸びとの関係を求めれば，イカ肉の硬さ或るいは剪断強さの大略を知ることが出来て．嚙切れの難易を比較することが出来るであろう。

また，イカ肉の硬さ，剪断強さ或るいは引張り応力と伸びとの関係は肉質の構造に関係があるものと思われる。従つて種々の処理条件によるイカ肉の嚙切れの難易を比較し，且つ肉質の構造を推察する一助として，イカ肉について引張り試験を行つた。

イカ肉について引張り応力と伸びとの関係を測定することは，破断張力，及び破断伸度を測定するよりも容易であり，更に前者はイカ肉の微細構造を測定するのに，後者よりも便利であるので，主としてこれについて調べた。

1955年2月28日受理　　（印刷費負担）東海区水産研究所業績B第198号
本報告昭和は29年11月，日本水産学会水産食品分科会（清水市）にて講演発表した。

実 験 の 部

実験 I. 生肉と煮熟肉との比較

著者等はイカ肉のかたさを調べる手段として，引張り応力と伸びとを測定することとしたが，イカ肉の応力及び伸びは，その組織学的構造[1]から考えて，その測定する方向によつて差異がありそうに思われる。著者等の実験[2]によると，生肉（皮を剝いだもの）に於いては体軸方向の破断張力は，体軸に直角な方向のそれと大約同様であるが，沸騰水中で1時間加熱すると，後者がやや破断張力を増加するのに反し，前者は全くそれを失う。著者等はこのような実験結果から，本研究に於いては体軸に対し直角方向の引張り応力と伸びとを測定することとした。

新鮮なスルメイカ（*Ommastrephes sloani pacificus*）の胴肉の表皮及び腹側の皮を出来るだけとりさり，この胴肉から体軸に対し直角方向に 0.6～0.9 cm 程度の巾に細長く試料を切りとつた。この試料片の測定距離が 2 cm になるように抗張力試験機に装置し，次第に引張り，この際の引張り応力と伸びとの関係及び破断張力（及び伸度）を調べた。得た結果は第1図の如くである。

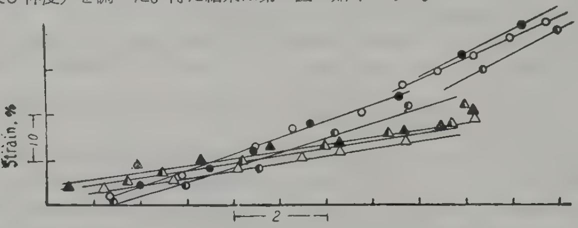


Fig. 1. Stress−strain curves of raw and boiled squid meats.
△, ◭, and ▲……Raw meat ; ○, ◐, and ●……Boiled meat.

図にみる如く，引張り応力と伸びとの間には，比較的応力の低い場合に直線関係が成り立つように思われる。煮熟肉にては，応力の大なる範囲にても，やゝ傾斜を異にした直線関係がありそうであるが，このような場合には，肉に縦に裂目が出来たりして，これらの結果は，考察の対象として用いることが不適当のように思われる。

比較的応力の低い場合のこれらの関係を生肉と煮熟肉とについて比較してみると，後者の関係直線の方が傾斜が急である。このことは，煮熟肉の方が生肉よりも伸び易いということを意味しているものと思われる。

破断張力及び破断伸度について著者等の得た測定結果は，余り正確とはいえないが，煮熟肉（破断張力，1500～2200 g/cm^2 ; 破断伸度，165～250%）の方が生肉（1100～1050 g/cm^2 ; 40～45%）より大である。

実験 II. 煮熟肉を薬品処理した際の影響

前同様に体軸に対し直角に切りとつた細長い胴肉を，先づ沸騰水中にて1時間煮熟した。この煮熟肉 10～15g を種々の薬品溶液 200cc に浸漬し，数日間，0°C の冷蔵庫に放置した後，この液の中で 100°C にて1時間加熱した。

用いた試薬の種類，加熱直前の試薬液の pH 価及び試薬と共に加熱した後の煮熟肉の水分を表記すると，第1表の如くである。表中○印のものは，薬品液中にて加熱処理後，破断張力を殆んど失い，測定が不可能であつた。これら○印以外のものについての結果の大要を一括して図示すると第2図の如くである。

第1図に見られるように，本実験に於いては測定の初期に，応力が増加しても，伸びがそれにともなわない場合が多いが，これは試料の性質及び測定方法の不備等によるものと思われる。第2図に於いては応力と伸びとの関係直線の傾斜を比較し易いように，零点を移動して図示した。

第2図の如く 10M 尿素溶液及び pH 10 のアルカリ溶液にて処理すると，非常に伸び易くなり，pH 8 のアルカリ及び M/10 β−ナフタレン・スルホン酸ソーダにてはやや伸び易くなつた。酸にて処理すると，pH4.0 にては伸び易さに変化がなく，pH 5.3 にては寧ろ伸び難くなつた。

Table 1. Water content of boiled squid meats treated with various reagents.

Kinds of reagents	pH values of the solutions	Temperature of treatments, °C.	Water content of boiled meats treated, %
10 M Urea	—	100	>90
M/10 Sodium β-naphthalene sulfonate	7	〃	77.4
Phosphate buffer (pH 8)	8	〃	79.4
Borate buffer (pH 10(	10	〃	84.3
M/10 Lactic acid	3.3	〃	91.3
M/100 〃	4.0	〃	81.8
N/10 H_2SO_4	2	〃	82.5
N/100 〃	3.1	〃	81.9
N/100 HCl	2.9	〃	90.7
N/1000 〃	5.3	〃	69.3
Blank (Boiled meat untreated)			75.3
3.5% NaCl	—	108～109	75.3
Distilled water	—	〃	77.8
Steam	—	〃	70.2
Blank (Boiled meat untreated)			76.5

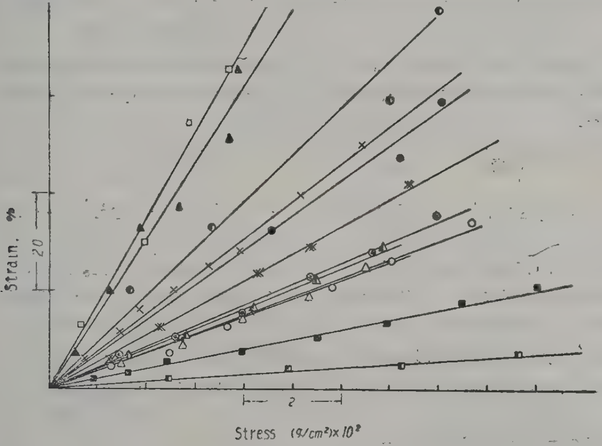


Fig. 2. Stress—strain curves of boiled squid meats treated with the solutions of various reagents at 100°C. ○,◎……Boiled meat untreated (Blank); □……Boiled meat treated with urea (10 M); ▲……with borate buffer (pH 10); ◐,●……with phosphate buffer (pH 8); ×,※……with sodium β-naphthalene sulfonate (M/10); △,▲……with lactic acid (M/100); ◧,■……with HCl (N/100).

破断張力及び破断伸度は，この場合にも余り信頼出来る結果が得られなかつたが，一応上記の試料について得られた結果を表記すると，第2表の如くである。

pH 5.3 の酸液にて処理したものは，破断張力が増加したが，これ以外のものは，すべて減少した。

実験Ⅲ．煮熟肉を加圧・加熱する影響

前同様の煮熟肉を 108～109° C (約 6 lbs) にて1時間，種々の条件下にて加熱した。

得た結果は，第3図の如くである。なお，これらの破断張力及び破断伸度は第2表下段の如くであり，又これらの水分は第1表下段の如くである。

Table 2. Breaking strength and breaking elongation of boiled squid meats treated with various reagents.

Kinds of reagents	Temperature of treatments, °C.	Breaking strength, g./cm.² (Breaking elongation, %)
10 M Urea	100	250(120)
M/10 Sodium β-naphthalene sulfonate	〃	400(75), 500(65), 500(90), 500(95)
Phosphate buffer (pH 8)	〃	500(60), 550(115)
Borate buffer (pH 10)	〃	100(55), 250(95)
M/100 Lactic acid	〃	260(30), 375(30), 400(33)
N/1000 HCl	〃	1600(95), 4100(220)
Blank (Boiled meat untreated)	〃	750(100), 800(70), 800(125), 900(95), 1100(85)
3.5% NaCl	108～109	540(80), 770(65), 920(95), 960(130)
Distilled water	〃	270(20), 230(20)
Steam	〃	730(55), 850(55), 1400(115), 1500(105)
Blank (Boiled meat untreated)	〃	1500(200), 1700(175), 2200(230)

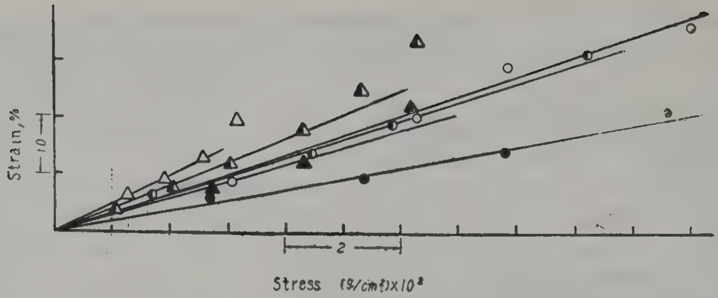


Fig. 3. Changes of the stress-strain curves of boiled squid meats when heated at 108～109°C. under different conditions. ○……Boiled meat untreated (Blank); ◭ and ▲……Heating in 3.5% NaCl solution; △……in distilled water; ◐ and ●……in steam.

図示の如く，蒸溜水及び 3.5%食塩水中にて処理したものは，多少伸び易くなるようでもあるが，確かなことは不明である。水中にて加圧・加熱したものは，破断張力は甚しく低下し，食塩水中にて加熱したものも破断張力は低下した。水等の液につけることなく，加圧・加熱すると，水分がやゝ減少するが，伸び易さ，及び破断張力は変化しない。0.6%尿素中にて加圧・加熱したものは，第1表の如く多量の水分を含み，破断張力は殆んどなくなつていた。

考　　察

得た結果について考察することは，なお早計と思うが，研究の前進への手掛りを得たいと考え，次のような考察を行つた。

先に[3]，著者等はイカ肉を水中にて加熱する際の応力の変化を調べ，次のような推察を行つた。即ち，イカ肉を構成する繊維性物質(繊維状蛋白質及び単繊維)は，比較的規則正しく一方向に配列し，各々の繊維性物質の間に二次結合（側鎖結合）が存在してその配列がさゝえられている。然るに，生肉が水中で熱せられると，繊維性物質間の側鎖結合が次第に切れ，或る温度以上になると，繊維性物質が配列を乱し，その結果，肉が収縮する。この収縮した肉は，ゴム状弾性体である。即ち，その構成物質は三次元的網目構造をなし，この物質は繊維性ではあるが，まつすぐなものではなく，もつれている。なお，この三次元的網目構造の構成に対し，側鎖結合として水素結合や塩類結合が関係している。

上記の推察が妥当であるとすれば，第1図の結果，即ち煮熟肉が生肉よりも伸び易いということは，前者がゴム状弾性体であり，後者の構成物質が比較的引き伸ばされた状態で側鎖結合によつてたばねられているということから説明出来る。又水素結合を切るといわれる尿素或るいは塩類結合を切るといわれる β-ナフタレン・スルホン酸ソーダにて，イカ煮熟肉を処理すると，伸び易くなるという第2図の結果は，これら両物質が煮熟肉の構成物質の網目構造を弱めるということに由来するのであろう。即ち網目構造の接合点をささえている二次結合及びこれら接合点と接合点との間の繊維それ自身に存在して，繊維に比較的規則正しい型ちを与えている二次結合が，前記両物質によつて切れ，その結果，接合点が減少し，繊維は規則性の少い伸び易い型ちとなり，従つて網目構造（煮熟肉）が伸びやすくなるのであろう。

尿素が β-ナフタレン・スルホン酸ソーダよりも煮熟肉の伸びに対し影響が大であるということは，蛋白質に水素結合が塩類結合よりも遙に多く存在するということから，ありそうなことと考えられる。

煮熟肉をアルカリ性溶液にて加熱処理すると，伸び易くなり，pH10 にては 10M 尿素溶液と同程度の効果を表わす。このことからアルカリにても多くの二次結合が切れたことが推察される。この程度の pH 価にては塩類結合が切れることも考えられるが，β-ナフタレン・スルホン酸ソーダの場合と比較すると，塩類結合の開裂のみでは，この大きなのび易さを説明し切れないように思われる。コラーゲンは pH12 程度のアルカリ性溶液で，室温にても水素結合が切れるとのことである[4]。煮熟肉を pH 10，1時間ではあるが，100°C に加熱したために水素結合が切れて，大きな伸び易さを生じたのではなかろうか。

本実験に於ける破断張力の測定結果は，前記の如く余り正確なものではないが，概して，煮熟肉の破断張

力は，生肉のそれよりも大である。この原因は，生肉が煮熟されて，構成繊維物質が収縮し，この収縮によつて繊維間の摩擦が増加したことに原因するとも考えられる。然し一方，HAUROWITZ 等[5]によると球状蛋白質が加熱されると，分子内の二次結合が切れるが，或る温度以上になると，分子間に新に結合が生じるとのことであり，又魚肉のすり身が加熱されてかたまり，又煮熟肉が生肉よりも溶解し難いこと等は，肉が加熱されると，新しい結合が出来ることを裏書するもののように思われる。これが事実であれば，煮熟肉の破断張力が生肉のそれより大である一半の原因は，この新しい結合によるものであろう。

煮熟肉を N/1000 塩酸中に加熱処理した場合に，水分量が低下し，破断張力が大となり，伸び難くなつたのは，この際の pH 価 5.3 が煮熟肉の等電点であつて，分子間結合が強化されたことによるものであろう。

前記のように，イカ煮熟肉を尿素やアルカリにて処理すると，伸び易くなり，破断応力が低下する場合には，この原因がイカ煮熟肉を構成する網目構造に於ける二次結合の開裂と関係ありそうに考えられるが，pH 4 の乳酸にて加熱する場合及び蒸溜水中にて加圧・加熱する場合のように，伸び易さに余り変化がなく，破断応力のみが比較的大きな低下を示す場合については，その原因を説明することは，現在なお出来ない。

著者等は本実験に於いて煮熟肉を比較の基礎にしているが，対照試験を一層厳密にするためには，この煮熟肉を更に蒸溜水中に1時間（他の試料と同様に）加熱したものを基礎とする方がよい場合があるように思われる。又著者等は煮熟肉の応力やのびの変化を構成物質の接合点及びもつれの増減という点から考察しているが，前記の如く，繊維間の摩擦の変化という点からも考えることが必要のようにも思われる。

上記のように，本実験の諸結果の生じる原因等を明解に説明することは，現在なお出来ないが，本実験にて行つたような処理により，煮熟肉の性質を変えることが可能で，この種の研究の進展により，イカ肉の加工処理，例えば水煮罐詰等の肉質の改善を計ることが出来そうに思われる。このことは，イカ肉以外の多くの肉についても同様であろう。

終りに臨み，本研究に対し御助言を賜つた東海区水産研究所，源生一太郎所長及び右田正男先生に深謝の意を呈す。

文　　献

1) 田中武夫：昭和 29 年5月，日本水産学会例会にて講演.
2) 髙橋豊雄，竹井　誠：昭和 29 年 11 月，日本水産学会水産食品分科会にて講演.
3) 髙橋豊雄，竹井　誠：昭和 27 年 10 月，日本水産学会大会にて講演.
4) K.H. GUSTAVSON : "Advances in Protin Chemistry" 4, 363 (1949).
5) F. HAUROWITZ : "Chemistry and Biology of Proteins" 132 (1950).

放射能汚染魚に関する研究—I. 魚体組織の放射能について

天野慶之・山田金次郎・尾藤方通
（東海区水産研究所）
高　瀬　　明
（国立公衆衛生院）
田　中　昭　二
（罐詰協会研究部）

Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish—I. Distribution of Radioactivity in Various Tissues of Fish

Keishi AMANO, Kinjiro YAMADA, Masamichi BITO, Akira TAKASE, and Shoji TANAKA

Radiochemical studies were made for 25 samples of fishes caught from the fishing ground including the area from longitudes 128° E to 162° E and from latitudes 3° N to 33° N during the season which covered from April 25th to July 7th 1954. It is noticed that the distribution of radioactivity varies widely as to the tissues of same fish sample. In general, liver, kidney, gall bladder and heart were found as the most contaminated parts in the tissues of the animal. Pyloric coeca, stomach and intestine were weaker in their radioactivity than the above organs ; further the least activity was observed for skin, bone and muscle. However, the order of strength of radioactivity in these tissues is not always the same if the different kinds of fish are comparedwith ach other. For example, the most radioactive parts detected in dolphin were liver, gall bladder and heart (Table 3), while in albacore, heart was not higher in its radioactivity than otherorgans (Table 7).

As the result of radiological examination of stomach contents of Okisawara (*Cybiidae sp.*) and dolphin, there was found no significant correlation between the radioactivity of stomach contents and that which observed in the tissues of the fish (Tables 2, 3). Even distribution of the activity was proved for the muscles which were taken from different parts of dolphin, big eyed tuna and yellow fin tuna (Tables 4, 5, 6). But dark muscle held always much highr radioactivity than white muscle of the same fish. Sometimes, over ten times of strength was recorded for dark muscle compared with white muscle (Tables 4 to 8).

緒　　言

第5福龍丸が被災した 1954 年3月1日以後，現在（1954 年12 月）に至るまで放射能汚染魚の検出例は相当の数量にのぼり，10 月末日までの廃棄数量は9万貫に達し，その漁獲海域も広く西南太平洋全般に及んでいる現状である。人為的な原子兵器実験によつて，放射能汚染をうけた魚類について，その汚染の内容を能う限り正確に記録することが本研究の目的であつて，こゝでは汚染の程度，魚体各組織，臓器等に於ける放射能の分布，組織中特に食用部分である筋肉中に蓄積する放射性元素の同定等を主として取扱つたものである。

プルトニウム又はウラニウムの核分裂によつて生ずる放射性同位元素の大部分のものは生物体の構成元素中に見出し得ないものであり，また核分裂物質のうち構成元素として普通存在するものでもその含有量は極めて少い。しかしながら放射能によつて検知される元素の量は通常の化学分析で取り扱われている量に比較

1954 年1月 29 日受理　東海区水産研究所業績第 194 号（印刷費負担）

し得ぬほど小さく，したがつて普通生物の構成元素に見出し得ない放射性同位元素により汚染された淡水又は海水に生棲する魚の組織に放射能が検出されても，その現象はあながち異とするに当らないであろう。KNOBF は Oak Ridge National Laboratory 下の水流である White Oak Lake, White Oak Creek 及び Clinch River の魚を調べ，White Oak Lake で採れた魚は極めて高い放射能を有し，肉 2.5 オンスで最大許容量を越えることを明かにし，また White Oak Creek が Clinch River に合流するところより 7.5 哩下流の地点で採れた或る種の魚にも可成りの放射能を認めている。さらに之等魚の組織についてその放射能強度を調べ，その強さは鱗，骨及び肉の順になつており，鱗及び骨に沈着している放射性同位元素は $Sr^{89,90}$ 及び Y^{90} であり，これに反して肉の放射性同位元素は大部分が Cs^{137} であることを報告している。Washington 大学の Applied Fishries Laboratory が 1949 年行つた Bikini その他の環礁の放射生物学調査[2]では，之等の環礁で採れた魚の組織に於ける放射能の強さは内臓（肝臓を除く），肝臓，骨，皮及び筋肉の順になり，また 1948 年度の調査試料によると魚の内臓に存在する放射性同位元素の大部分は Ce^{144} 及び Pr^{144} であるらしい。1954年の俊鶻丸によるビキニ海域調査[3]に於ては広範囲の海域より放射能を帯びたマグロ類を採取し，之等魚の組織に於ける放射能の強さを皮，筋肉，血合肉，鰓糸，血液，心臓，胆汁，幽門垂，脾臓，胃壁，腸壁，腸内容，生殖巣，腎臓，骨，肝臓について調べ，その放射能強度は腸内容，幽門垂及び肝臓が最も大きく，脾臓，腎臓等が之に次ぎ，鰓及び血液にも相当の放射能が認められ，骨，皮及び筋肉の強度は内臓器管に比べて可成り低い結果を得，さらに海水及びプランクトンの放射能汚染結果よりして，之等魚に於ける，核分裂による放射性同位元素の移行経路は海水，プランクトン，魚の順であろうとしている。我々もまたこのビキニ海域調査と殆ど日を同じくして遠洋マグロ漁船により漁獲されたマグロその他の魚に於ける組織の放射能強度を 25 尾の材料について調べ，その強度は魚種，個体によつて多少異るも，肝臓，腎臓，胆嚢及び心臓（血液を含む）が最も大きく，幽門垂，胃，腸及び生殖巣が之に次ぎ，皮，骨及び筋肉にも僅かながら放射能が認められ，且つ筋肉の放射能は血合肉よりも明かに低く，また部位によつてさ程変動がないことを明かにした。したがつてその結果をこゝに報告することとする。

実験及び実験結果

供試材料

実験に供した材料はすべて東京都中央魚市場に水揚げされ，放射能検査の結果，廃棄処分に附された魚（体表より 10 cm の距離で 100 カウント以上のもの）であつて，その種類はオキサワラ 7 尾，シイラ 6 尾，メバチ 2 尾，キハダ 4 尾，ビンナガ 5 尾及びクロカワ 1 尾の合計 6 種，25 尾である。之等供試材料の性別，体長，体高，体重並に漁獲船名，漁獲水域，漁獲月日を一括して表示すると第 1 表の如くである。

放射能の計測方法

KNOBF[1] は淡水魚の放射能計測に於て，魚の組織を 100° C で乾燥した後，硝酸で分解し，550° C で灰化を行い，その灰について放射能を End-window 型 Geiger-Mueller counter で調べている。また Washington 大学の Applied Fisheries Laboratory によつて行われた海水魚の放射能汚染の研究[2]では，1 ~ 5 g の組織を 100 ~ 300° C で乾燥し，500 ~ 550° C で灰化を行い，その灰を細挫して水を加え測定用の皿に移し，乾燥後，メタンを注溢せしめた Internal counting chamber を用いて放射能を調べ，さらにビキニ海域の調査報告[3]に於ては，魚の組織 1 g をステンレス・スティール製試料皿にとり細挫した後，表面を一様に平滑にした生試料と，その試料を更に減圧乾燥した乾燥試料の 2 つにつき，組織の放射能を科研 32 型 Radiation counter にて計測している。

組織に於ける放射能を計測する場合，その放射能が可成り大きく，試料の自己吸収を求めることが可能である以外は，乾燥又は灰化試料より得た値から生試料の放射能を求めることはできない。またその逆も同様であり，勿論放射能が可成り大きい場合でも，含まれる放射性元素の種類並にその割合が組織によつて異るときは，各組織についてその自己吸収係数並に Back-scattering の値を求めなければならない。しかしながら自己吸収を少くする目的を以って一定量の生試料を乾燥又は灰化し計測を行う場合は別であつて，乾燥又は灰化した試料より生試料の放射能を求めることができる。たゞしこの場合に於ては，乾燥物又は灰の量が自己吸収を無視し得る程度のものでなければならぬ。

Table 1. Species and morphological data of the samples.

Specimen number	Species of fish	Sex	Total length	Body height	Total Weight	Name of fishing boat	Site of catch	Date of catch	Remarks
1	"Okisawara" (*Cybiidae sp.*)	♂	126cm.	18cm.	15.3kg.	Kikusuimaru	22°N, 145°E	April 25 ~ May 9	
2	〃	♂	121	18	13.5	〃	〃	〃	
3	〃	♀	131	22	20.3	〃	〃	〃	
4	〃	♂	112	16	11.2	〃	〃	〃	
5	〃	♀	102	15	6.8	〃	〃	〃	
6	〃	♂	133	20	19.4	〃	〃	〃	
7	〃	♀	137	20	20.4	〃	〃	〃	
8	Dolphin (*Coryphaend hippurus*)	♂	106	24	12.0	No. 15 Taihomaru	18—22°N, 128- 132°E	April 25~ May 13	
9	〃	Unknown	99	22	9.6	〃	〃	〃	
10	〃	〃	105	23	10.9	〃	〃	〃	
11	〃	♀	100	21	9.7	〃	〃	〃	
12	〃	Unknown	103	22	9.2	〃	〃	〃	
13	〃	♀	94	21	7.2	〃	〃	〃	
14	Big eyed tuna (*Parathunnus sibi*)	♀	154	46	Unknown	Nittomaru	33°N, 162°E	June 1~ June 17	Gutted fish
15	〃	Unknown	119	35	〃	〃	〃	〃	〃
16	Yellow-fin (*Neothunnus macropterus*)	〃	134	36	38.6	No. 2 Tokachimaru	4°N, 143°E	June 10 ~ June 18	〃
17	〃	〃	126	34	36.5	〃	〃	〃	〃
18	Black marlin (*Makaira mazara*)	〃	Unknown	50	Unknown	No. 5 Aburatsumaru	3°20′N, 148°E	June 18 ~ July 7	〃
19	Albacore (*Germo germo*)	♂	100	24	21.8	〃	〃	〃	
20	〃	Unknown	100	23	21.0	〃	〃	〃	
21	〃	〃	96	24	16.5	〃	〃	〃	
22	〃	♀	97	24	18.0	〃	〃	〃	
23	〃	Unknown	95	23	16.8	〃	〃	〃	
24	Yellow-fin (*Neothunnus macropterus*)	〃	111	27	22.9	〃	〃	〃	Gutted fish
25	Albacore (*Germo germo*)	〃	128	28	30.6	〃	〃	〃	

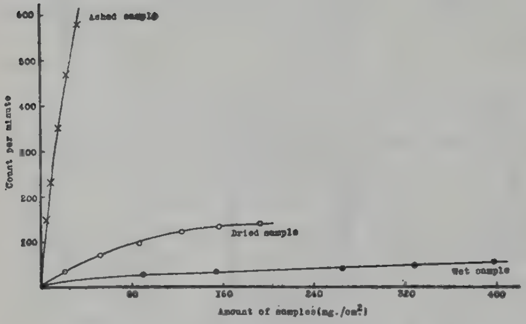


Fig. 1. Radioactivity of wet, dried and ashed samples of dolphin liver (No. 10) in c.p.m.

組織の放射能をどの様な形態の試料で測定するかは，目的とするところによつても異るであろうが，放射能の小さい魚の組織で，生試料では殆ど放射能が験知し得ないものにあつては，乾燥又は灰化によつて放射性元素を濃縮し計測を行うべきであろう。そこでまず，廃棄処分に附された魚の各組織に於ける放射能を計測する場合，如何なる形態の試料について，またどの程度の量をもつて計測を行うべきかについて検討を行つた。使用した組織はシイラ（No. 10）の肝臓であり，之を乳鉢で細挫したもの（生試料），105°C で乾燥後粉末としたもの（乾燥試料）並に乾燥試料を 800°C で灰化したもの（灰化試料）につき検体量を種々変えてその放射能を計測した。その結果は第1図の如くである。

検体は直径 2.5cm のステンレス・スティール製試料皿にとり，その量は 1 cm^2当りの mg 数で表した。計測に使用した計器は Geiger-Mueller counter(科研 32 型 Radiation counter) で，使用 GM 管は End window型であり，その Mica の厚さは 3.4 mg/cm^2 で，Mica window より検体までの距離は 16 mmであつた。

第1図から判ることは生試料では約 50 cpm で，乾燥試料では約 150 cpm でほゞ Infinite thickness に到達するも，灰化試料では 600 cpm でも Infinite thickness に到達せず，且つ実験に供したシイラ肝臓は可成り放射能の大きな組織であるから，他の放射能の小さい組織では生または乾燥試料で放射能を計測することが放射能検出の精度からして適当でないことが判る。したがつて計測検体として一定量の灰化試料 (97.4 mg, 20 mg/cm^2) を用い，一般に 10 分間の計測値から 10 分間の Back ground を差引いて1分間当りのカウント数を出し，その値から各組織の放射強度を比較した。なお検体量を直径 2.5 cm の試料皿に対し 20 mg/cm^2 とした理由は試料量の関係であり，検体量が 20 mg/cm^2 にとれないものは第1図の灰化試料の曲線を用い，20mg/cm^2 当りのカウント数を算出した。

オキサワラ及びシイラ各組織の放射能

調べたオキサワラ及びシイラは第1表の No. 1 から No. 13 に相当するもので，オキサワラは菊水丸の漁獲物（マグロ類 11 トン，サメ類 5.6トン）中放射能検査の結果廃棄処分に附されたオキサワラ 15尾（最低 134 cpm，最高 385 cpm）のうちの7尾であり，シイラは第15大鵬丸の漁獲物(マグロ類11トン)中放射能検査の結果廃棄処分に附されたカジキ[illegible]1尾，バショウカジキ 30 尾及びシイラ 120 尾（最低 152 cpm，最高 [illegible]26 cpm）中のシイラ 6 尾である。之等の材料を用い，オキサワラの場合は胃内容を含めて 8 組織，シイラの場合は同じく 12 組織についてその放射能強度を求めた結果は第2表，第3表の如くである。なおシイラ No. 11 について部位を異にする筋肉その他の組織についての放射能強度を調べた結果は第4表の如くである。

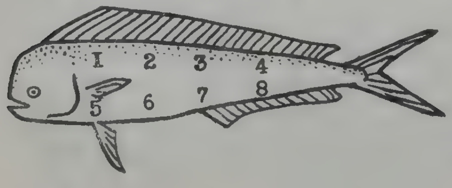


Fig. 2. Localities of muscle samples examined.

第2表から判ることはオキサワラ被検魚体7尾中明かに筋肉に放射能が認められるのはNo. 7 だけであり，その他の魚体に於ては僅かに存在するか，または存在しないものの如くである。骨（脊椎骨）に於ては更に放射能は低いものの如く，明かにその存在が認められるのは1尾もない。之に対しエラ，皮，胃及び生殖巣に於ては殆どすべての個体に放射能が認められ，一般に肝臓の放射能強度が最も大きい。胃内容

Table 2. Radioactivity of ashed tissue of "Okisawara" (*Cybiidae sp.*).

Tissue	Specimen						
	No. 1 (Date counted, June 13)	No. 2 (Date counted, June 15)	No. 3 (Date counted, June 14, 15)	No. 4 (Date counted, June 17)	No. 5 (Date counted, June 19)	No. 6 (Date counted, June 28)	No. 7 (Date counted, June 7–13)
Muscle	−2±3*c.p.m.	9±3 c.p.m.	6±3 c.p.m.	8±3 c.p.m.	−4±3 c.p.m.	−4±3 c.p.m.	13±3 c.p.m.
Gill	14±3	23±3	7±3	—	−3±3	6±3	16±3
Skin	43±3	22±3	19±3	12±3	28±3	11±3	21±3
Stomach	57±4	58±4	33±3	3±3	22±3	22±3	59±4
Liver	805±9	488±7	125±4	14±3	9±3	101±4	354±6
Gonad	26±3	30±3	16±3	1±3	6±3	5±3	40±3
Bone	6±3	5±3	−5±3	1±3	1±3	1±3	−1±3
Stomach content	1±3	128±4	59±3	6±3	4±3	—	373±7

* Calculated counts from the curve of ashed sample in Fig. 1.

Table 3. Radioactivity of ashed tissue of dolphin (*Coryphaend hippurus*).

Tissue	Specimen					
	No. 8 (Date counted, June 9—18)	No. 9 (Date counted, June 16 17)	No. 10 (Date counted, June 19)	No. 11 (Date counted, June 25)	No. 12 (Date counted, July 6, 7)	No. 13 (Date counted, July 8, 9)
Muscle	37± 3 c.p.m.	58± 3 c.p.m.	15± 3 c.p.m.	— c.p.m.	20± 3 c.p.m.	11± 3 c.p.m.
Gill	67± 3	30± 3	14± 3	45± 3	20± 3	2± 3
Skin	29± 3	39± 3	12± 3	—	16± 3	5± 3
Stomatch	105± 3	231± 5	74± 4	196± 5	125± 5	10± 3
Liver	1,068±11	1,162±11	—	491± 8	1,209±12	43± 3
Gonad	78± 4	119± 4*	50± 3	323± 6	122± 5*	23± 3
Bone	7± 3	18± 3	3± 3	—	20± 3	3± 2
Stomach content	49± 3	14± 3	7± 3	30± 3	9± 3	3± 2
Pyloric coeca	229± 6	364± 7	108± 3	280± 6	156± 5	18± 3
Gall bladder	1,074±11*	733± 9*	247± 6*	1,854±14*	952± 10*	30± 3*
Heart	837± 9*	1,516±13*	439± 7*	1,379±12	518± 3	15± 3*
Intestine	74± 4	259± 6	107± 4	156± 5	69± 4	8± 3

* Calculated counts from the curve of ashed sample in Fig. 1.

Table 4. Distribution of radioactivity in various localities of muscle and other tissues of dolphin (Specimen, No. 11).

Tissue	Locality	Side of body	Radioactivity (c.p.m.)	Date of counting
Muscle	1 *	Left	33±3	June 20
	2 *	〃	45±3	〃
	3 *	〃	33±3	〃
	4 *	〃	66±4	〃
	5 *	〃	51±3	〃
	6 *	〃	—	〃
	7 *	〃	39±3	〃
	8 *	〃	34±3	〃
	1 *	Right	24±3	〃
	2 *	〃	33±3	〃
	3 *	〃	42±3	〃
	4 *	〃	41±3	〃
	5 *	〃	39±3	〃
	6 *	〃	40±3	〃
	7 *	〃	33±3	〃
	8 *	〃	34±3	〃
Skin	Anterior part	Left	32±3	June 26
	Posterior part	〃	20±3	〃
	Anterior part	Right	33±3	〃
	Posterior part	〃	29±3	〃
Vertebral column	Anterior part		6±3	〃
cut off neural spine	Posterior part		7±3	〃
Neural spine	Anterior part		17±3	〃
	Posterior part		4±3	〃
Dark muscle		Left	187±5	June 20
		Right	133±4	〃
Fin	Dorsal fin		12±3	June 26
	Anal fin		9±3	〃
	Caudal fin		8±3	〃

* See Fig. 2.

物の放射能は個体によつて相当の相異があり，組織の放射能との間には相関が認められない。シイラの場合（第3表）は，被検魚体すべてに於て，筋肉に放射能が認められるも，その強度は他の組織に比べ骨に次いで小さく，エラ及び皮は筋肉に次いで高く，肝臓，胆嚢及び心臓は最も高い。その中間にあるのが胃，生殖巣及び幽門垂であつて，胃内容物は一般的に差程その放射能が高くなく，また個体に於ける放射能強度の変動はオキサワラの場合よりも小さい（例えば No. 8 と No. 13 参照）。次に部位を異にした組織の放射能強度をシイラについて調べた結果（第4表）によると，筋肉及び皮の放射能は部位によつて相異がなく，骨の場合は棘状突起を除いた背椎骨も共に筋肉及び皮に比べてその放射能は低いものの如く，また部位によつての相異は認め難い。ヒレは背ビレ，尻ビレ及び尾ビレについてその放射能を調べたが，その強度は骨と大差がなかつた。なお魚体の左右による放射能強度の相異を筋肉，皮及び血合肉について調べたが何れも相異が認められなかつた。

メバチ，キハダ及びビンナガ各組織の放射能

調べたメバチは日東丸が漁獲したもので，その漁獲物（マグロ類 11 トン，サメ類 7.5 トン）中放射能検査の結果廃棄処分に附されたメバチ4尾（最低 120 cpm，最高 494 cpm）のうちの2尾であり，キハダは第

Table 5. Radioactivity of ashed tissue of big eyed tuna (*Parathunnus sibi*).

Tissue	Specimen	
	No. 14 (Date counted, July 2—20)	No. 5 (Date counted, July 2—20)
Muscle above pectoral fin	11±3 c.p.m.	7± 3 c.p.m.
Muscle under pectoral fin	14±3	7± 3
Muscle under second dorsal fin	8±3	10± 3
Muscle above anal fin	8±3	6± 3
Skin above pectoral fin	1±3	3± 3
Skin under second dorsal fin	4±3	4± 3
Dark muscle	20±3	66± 3
Gonad	40±3*	—
Kidney	147±5	812±10

* Calculated counts from the curve of ashed sample in Fig. 1.

Table 6. Radioactivity of ashed tissue of yellow-fin tuna (*Neothunnus macropterus*).

Tissue	Specimen	
	No. 16 (Date counted, July 20—22)	No. 17 (Date counted, July 22—24)
Muscle above pectoral fin	25± 3 c.p.m.	15± 3* c.p.m.
Muscle under pectoral fin	24± 3	18± 3
Muscle under second dorsal fin	20± 3	28± 3
Muscle above anal fin	29± 3	16± 3
Muscle around kidney	34± 3	22± 3
Surface layer of dark muscle	142± 5	94± 4
Deep layer of dark muscle	165± 5	93± 4
Vertebral column	1± 3	7± 3
Opercle	29± 3	24± 3
Kidney	3,372±34	1,933±26

* Calculated counts from the curve of ashed sample in Fig. 1.

Table 7. Radioactivity of ashed tissue of albacore (*Germo germo*).

Titssue	Radioactivity (c.p.m.)	Tissue	Radioactivity (c.p.m.)
Muscle	58± 3	Liver	2,522±16
Skin	7± 3	Pyloric coeca	1,376±12
Dark muscle	209± 5	Gall bladder	9,984±66*
Kidney	4,488±30	Stomach content	220± 6
Opercle	4± 2	Stomach	1,194±12
Eye	15± 3	Gonad	710± 9
Clavicle	8± 3	Intestine content	411± 7
Gill	101± 4	Intestine	1,814±14
Heart	1,252±12		

* Calculated from the curve of ashed sample in Fig. 1.
Specimen, No. 25; date counted, Aug. 28～31.

2 上勝丸が獲つたもので，漁獲物（マグロ類 24 トン，サメ類3.7 トン)中廃棄されたキハダ2尾であり，No. 16 は 371 cpm，No. 17 は 216 cpm あつたもので，またビンナガは第5油津丸の漁獲物で 1,704 cpm あつたものである。メバチ及びキハダは内臓が除去されていたため，多くの組織についてその放射能を調べ

ることができなかつた。放射能の計測結果は第5，第6表の如くである。またビンナガは胃内容物及び腸内容物を含めて 17 組織について放射能を調べた（第7表）。

メバチの場合，第5表から判る如く，シイラと同様に筋肉及び皮に於ては部位の相異による放射能強度に大小なく，且つ血合肉は明かに普通肉に比べて高い放射能を有していた。更に血合肉の放射能強度の大きいものはまた腎臓の放射能も高い。キハダに於てもメバチと同様，筋肉の部位による放射能の相異は認められず，また血合肉は深部血合も表面血合もその放射能強度に相異がないものの如くである。骨に於ては脊椎骨より顎骨の方が明かに放射能強度が大であつた。ビンナガの場合は一例でその放射能は相当高いものであつたが，筋肉にも可成りの放射能が認められ，その強度は皮，骨及び眼球より大きく，血合肉，エラ及び生殖巣より小さかつた。また腎臓，心臓，肝臓，幽門垂，胃及び腸の放射能強度は極めて大きく，胃及び腸内容物はその内容物を含む夫れ夫れの組織（胃及び腸）に比べ放射能が低かつた。

普通肉及び血合肉の放射能

血合肉のの放射能が普通肉に比べて高いことはシイラ（第4表），メバチ（第5表）キハダ（第6表），及びビンナガ（第7表）の6魚体について明かであるが，マグロ類が生食される場合，場合によつては血合肉も混入されるため，更にこの関係が他の魚体についても云い得るか否かを明かにするために，被検材料としては第5油津丸の放射能汚染魚，クロカワ，ビンナガ及びキハダの7魚体を選び，普通肉及び血合肉の放射能強度を調べ，第8表の如き結果を得た。なお比較のために幾つかの魚体に於ては肝臓，腎臓及び心臓の放射能を調べた。

Table 8. Comparison of counts in ordinary and dark muscles of various radioactive fishes.

Tissue	Specimen			
	No. 18(Date counted, Aug. 6)	No. 19(Date counted, Aug. 4)	No. 21(Date counted, Aug. 4)	No. 22(Date counted, Aug. 4)
Ordinary muscle	14±3 c.p.m.	8±3 c.p.m.	7± 3c.p.m.	17± 3c.p.m.
Dark muscle	48±4	13±3	51± 5	51± 4
Liver	—	15±3	758±13	1,277±11
Kidney	578±9	5±3	—	—
Heart	—	—	175± 7	219± 6

Tissue	Specimen		
	No. 23(Date counted, Aug. 4)	No. 24(Date counted, Aug. 28)	No. 25(Date counted, Aug. 30, 31)
Ordinary muscle	28±3 c.p.m.	5±3 c.p.m.	62± 4 c.p.m.
Dark muscle	261±6	48±4	876±10
Liver	—	—	—
Kidney	—	—	—
Heart	—	—	—

第8表の結果から之等すべての魚体に於て血合肉の放射能は普通肉に比べて高く，且つ No. 19 を除き肝臓，腎臓及び心臓の放射能強度が普通肉及び血合肉に比較して大きいことが判る。

考　　察

東経 128 度から 162 度，北緯3度から 33 度に亘る5つの地点に於て 1954 年4月 25 日より7月7日までの間に漁獲された放射能汚染マグロその他の魚の放射能強度を組織について調べ，一般的に云つて，肝臓，腎臓，胆嚢及び心臓（血液を含む）が最も大きく，幽門垂，胃，腸及び生殖巣が之に次ぎ，皮，骨及び筋肉の放射能は最も低いことが判つた。しかしながら放射能強度の小さな魚にあつてはこの傾向は明瞭ではなく（No. 4 及び No. 5 のオキサワラ，No. 13 のシイラ），またこの強度順位は魚種によつて多少異る。例えばシイラの場合最も放射能強度の大きな組織は肝臓，胆嚢及び心臓であるが，ビンナガ(第7表)では胆

嚢，腎臓，肝臓及び腸が最も大で，心臓は幽門垂の次となつている。

胃内容物の放射能を調べた魚体は僅かオキサワラとシイラの 13 尾であるが，之等の組織の放射能強度の大小と胃内容物との間の関係は，胃内容物の放射能の高いもの必ずしも組織の放射能強度が大きくなっていない。魚の放射能汚染経路という点から見て，このことは必ずしもいわゆる食餌汚染を否定するものではないが，海水魚は生活環境に適応する生理機構としての滲透的独立性を有しているから，その独立性によつて海水中の放射性塩類が直接魚体内にとり入れられる可能性は考慮する必要があろう。

各組織に於ける放射能強度の計測結果よりマグロその他の魚の筋肉に於ける放射能は他の組織に比べ極めて弱いことが判るが，その強さは部位によつて差程変動がないことがシイラ，メバチ及びキハダの結果よりして明かである（第4，第5及び第6表）。また血合肉の放射能強度が普通肉に比べて数倍乃至は十数倍大きいことは第4～第8表の結果より明かであり，このことは血合肉もまた可食される可能性から注目すべきことである。

以上の結果は灰化した試料についての計測結果であるから，この結果を直ちに White Oak Lake 及び Clinch River[1]，Bikini その他の環礁[2] 並にビキニ海域[3] の放射能汚染魚の結果と比較することはできない。と云うのは之等汚染魚に於ては夫々計測方法が異るからである。Knobf の結果から明かな様に淡水魚の骨と肉とでは沈着している放射性同位元素は質的に異るものであるが，いま放射能汚染魚に単一の放射性同位元素が沈着しているか，または幾つかの放射性同位元素が一定比率で沈着しているとすると，20mg/cm^2 の灰化試料で放射能を計測する場合，その自己散乱乃至は自己吸収は一定である故，組織の灰分量から生試料 1g 当りの放射能強度の相対値が得られる。第9表は第7表のビンナガにつき胆嚢を 100 として計算して得た生試料の相対値である。なお灰化試料の胆嚢を 100 とした値も比較のため併せて表に記した。この表から明かな如く，灰化試料と生試料の値は可成り異り，しかも灰分量の相異によりその放射能強度の順位も大巾に異るものがある（例えば腸内容物の如き）。

Table 9. Relative value of radioactivity in wet and ashed tissues of albacore (Specimen, No. 25).

Tissue	Relative value of radioactivity	
	Ashed tissue	Wet tissue
Gall bladder	100	100
Kidney	50	30
Liver	25	16
Intestine	18	8.5
Pyloric coeca	14	14
Heart	13	6.0
Stomach	12	4.7
Gonad	7.1	6.3
Intestine content	4.1	32
Stomach content	2.2	4.8
Dark muscle	2.1	1.5
Gill	1.0	0.5
Muscle	0.6	0.3
Eye	0.2	0.4
Clavicle	0.08	0.1
Skin	0.07	0.07
Opercle	0.04	0.7

終りに臨み本研究を遂行するに当り，多大の便宜を供与された蚕糸試験場横山場長，清水化学部長，森技官並に鞭撻を賜つた東海区水産研究所源生所長に対し深謝の意を表する。又，計測に当つて助力された石井房枝氏に感謝する。なお，本研究経費の一部は厚生省よりの放射能被害調査研究費によつた。記して謝意を表わす。

文　　献

1) Knobf, V. I. : *Studies of radioactivity in fish from White Oak Lake and the Clinch River*, ORIVL—1031, July 9(1951).

2) Applied Fisheries Laboratory, Univ. of Washington : *Radiobiological survey of Bikini, Eniwetok, and Likiep Atolls*, AECD—3446, July 12 (1950).

3) 水産庁：ビキニ海域調査，未発表

放射能汚染魚に関する研究—II.
放射定性分析結果について

山田金次郎・戸沢晴已・天野慶之・高瀬　明
（東海区水産研究所）　（国立公衆衛生院）

日本水産学会誌
第二十巻 第十号 別刷
昭和三十年二月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 10, February 1955

放射能汚染魚に関する研究—II. 放射定性分析結果について

山田金次郎・戸沢晴已・天野慶之・高瀬　明
（東海区水産研究所）　（国立公衆衛生院）

Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish—II. Group Separation of Radioactive Elements in Fish Tissues

Kinjiro YAMADA, Harumi TOZAWA, Keishi AMANO and Akira TAKASE

Group separation of radioactive elements in the individual tissue was carried out for several kinds of fish which had been rejected as highly radiologically contaminated at the time of landing. It has proved that the major part of radioactive elements contained in the tissues is represented by the Group III, which can be precipitated by H_2S in ammonia alkaline solution.

Because of the rare appearance of Group III-B in the sea water taken from contaminated zone near to Bikini Atoll, which has been already ascertained by the research members of "Shukotsu-Maru", the presence of this type of elements (Group III-B) is quite characteristic for the contamination of these pelagic fish.

In certain tissues examined, however, radioactivity was detected for both Group II and IV ; the former is a fraction which can be precipitated with H_2S in HCl solution and the latter can be obtained by addition of H_2SO_4 and alchohol to the solution, from which the Group II was previously removed. Study on the radioactive substances belonging to these two groups is now in progress.

緒　言

第1報に於ては遠洋マグロ漁船によつて漁獲された 25 尾の放射能汚染魚につき各組織の放射能強度を調べ，その強度は魚種，個体によつて多少異るも，肝臓，腎臓，胆嚢及び心臓が最も大きく，幽門垂，胃，腸及び生殖巣が之に次ぎ，皮，骨及び筋肉にも僅かながら放射能が認められ，且つ筋肉の放射能は血合肉よりも明かに低く，また部位によつて差程変動がないことを明かにした。この報告に於ては第1報に引き続き，之等の魚並びに 1954 年俊鶻丸がビキニ海域調査に於て採つたカツオ，クロカワの組織について放射定性分析を行つたのでその結果を報告する。

実験及び実験結果

実験に供した魚は第1報に於けるオキサワラ，シイラ，メバチ及びキハダと俊鶻丸が 1954 年ビキニ海域で漁獲したカツオ及びクロカワである。このカツオ及びクロカワは俊鶻丸が採取した魚のなかで最も放射能強度の大きな魚であり，供試オキサワラ及びシイラもまた組織の放射能の強い魚であつた。之等のうち，多くの組織につき分析を行つた魚はオキサワラ，シイラ及びカツオの計3尾であり，他の魚に於ては 2，3 の組織について分析を行つた。

放射定性分析法

魚体各組織を第1報の如く処理して得た灰化試料について担体を用いる放射定性分析を行つた。最初分析法として普通分析法を使用し，灰化試料中に含まれる金属中第1属及び第2属を夫々塩化物，硫化物として分離した後，第3属をアンモニア・アルカリ性で硫化水素を通して落し，その濾液につき第4属を炭酸塩と

1954 年 1 月 29 日受理　東海区水産研究業績第 195 号（印刷費負担）

して第5属から分離した（方法 I）。しかし検体中には燐酸根が含まれるため，アルカリ及びアルカリ土類金属と第3属の金属の分離に於て，アルカリ土類金属及びマグネシウムが燐酸塩として第3属に共沈する恐れがあるので[1]，オキサワラ及びシイラ以外はこれを防ぐため，まずアルカリ土類金属を硫酸塩として分離した後，第3属の金属をアンモニア・アルカリ性で硫化水素を通して落した（方法 II）。オキサワラ及びシイラでも，アンモニア・アルカリ性としたとき，可成り沈澱が認められる試料は方法IIを使用し，沈澱の少いものは方法Iで放射性元素の分属を行つた。カツオに於てはすべて方法IIの分析法を使用したのであるが第3属は更に之を2つに分け，アンモニア・アルカリ性で沈澱する亜属（第3属A）と硫化アンモンで沈澱する亜属（第3属B）とにした。

しかし何れの方法によつても第3，第4属の分属は完全にいかない。オキサワラ（No. 2）骨灰に Ca^{45} を添加し，方法I及び II の2つの方法によつて分属を行うと，方法Iでは第 3 属に可成りの放射能が落ち（第1属 5 cpm，第2属0 cpm，第3属 302 cpm，第4属69 cpm，第6属19 cpm），方法IIでは総ての Ca^{45} が第4属に来る（第1属 0 cpm，第2属 4 cpm，第3属 3 cpm，第4属 658 cpm，第5属 0 cpm）。したがつて方法Iによつた試料では第3属にニッケル，鉄，アルミニウム，稀土類，ジルコニウム等の金属以外に大部分のアルカリ土類が来，一部のアルカリ土類が第4属に行くものと思われる。之に対し方法IIでは方法Iで第3属に来るセリウムの如き金属が第4属に行く。と云うのはシイラ（No. 10）筋肉灰に Ce^{144} を加え，方法IIによつて分属を行うと Ce^{144} は総て第4属に行くからである（第1属 16 cpm，第2属 5cpm，第3属 3cpm，第4属 337 cpm，第5属 4 cpm）。しかし Zn^{65} は殆ど第3属に落ちる（第1属 4 cpm，第2属 0 cpm，第3属 1,590 cpm，第4属 15 cpm，第5属 64 cpm）。

方法I及びIIは共にアルカリ土類金属の分離以外その操作が全く同じであるため，こゝに於ては操作の詳細を方法IIについて述べることとする。まず灰化試料 0.1 g（試料量の不足のものについてはそれ以下）を秤取し，3 N 塩酸20滴を加え，加温して塩酸可溶性成分を溶解後，蒸発乾固する。乾固した検体に蒸溜水約4 ccと 3 N 塩酸 1～2 滴を加え，最早や検体が溶解しないことを確めた後，冷却し濾過する。沈澱は稀塩酸（水4 cc に対し濃塩酸1滴）で3回洗い，濾液は第2属以下の分属を行う。沈澱は更に約1 cc の50% アルコール及びアセトンで各1回洗つた後，沈澱を濾紙と共に，直径 2.5 cm のステンレス製の試料皿にとり，Mica window より 16 mm の距離で Geiger-Mueller counter（科研32型 Radiation counter）で放射能強度を計測する。なお検体が完全に塩酸で溶解する場合は担体として Ag イオン 1 mg を添加する。第1属を分離した濾液は担体として Cu イオン1 mg を加え，6 N アンモニアで中和した後，6 N 塩酸 10 滴を加えて酸性となし，全量を約 10 cc とする（最終塩酸濃度約 0.3 N）。加熱後硫化水素を 1～2 分通し，生ずる沈澱を濾別し，硫化水素含有水で3回洗つた後，アルコール及びアセトンで沈澱を処理し，その沈澱について第2属の放射能を計測する。第2属を分離した濾液は更に加熱して硫化水素を駆逐し，濃硫酸 1 cc を加え，蒸発濃縮して水分を除く。之に水約 10 cc を加え，冷却後アルコール約 30 cc を添加する。生ずる沈澱を濾過し，アルコールで数回洗つた後アセトン処理を行う。第4属を除いた濾液は之を加熱し，アルコールを駆逐し，水を加えて容量を 5～10 cc とする。更に 3 M 塩化アンモニア 1 cc を添加した後，6 N アンモニアで僅かにアルカリ性となし，硫化水素を3分間通す。沈澱を完全にするため更に加温した後，10 分間放置し，沈澱を濾別する。第3属の沈澱を除いた濾液は試料皿中で濃縮乾固し，このものについて第5属の放射能を計測する。

オキサワラ及びシイラに於ける分属

第1報の組織の放射能を調べた結果に基き，組織に於ける強度の大きな魚（No. 2 及び No. 8）について放射定性分析を行つた。得られた結果は第1表及び第2表の如くである。

第1表はオキサワラの分属結果であり，筋肉，胃及び肝臓は方法Iの分析法により，他の組織の分属は方法IIによつて調べたものである。第1報の第2表から判る如く，之等の組織は筋肉，骨を別としても或程度の放射能を有していたものである。しかし分属結果では肝臓，生殖巣，胃及び胃内容物を除き，その分属様相は左程明かでない。肝臓及び生殖巣に於ては第3属の放射能が高く，胃及び胃内容物では第4属の放射能強度が大きい。第1属は胃並に肝臓に於て可成りの放射能が認められるが，第2，第5属の放射能はどの組織に於ても殆ど認めることができなかつた。第2表はシイラの分属結果であり，方法Iによつた組織は筋肉，

Table 1. Group separation of radioisotopes contained in various tissues of "Okisawara" (Specimen, No. 2).

Tissue	Radioactivity (c.p.m.)					Date of counting
	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	
Muscle*	1±2	5±2	1±2	0±2	0±2	Aug. 12
Gill	2±2	0±2	8±2	−1±2	2±2	〃 11
Skin	3±2	4±2	2±2	11±2	−2±2	〃 9
Stomach*	16±3	2±2	−2±2	16±3	2±2	〃 12
Liver*	59±3	3±2	293±6	2±2	0±2	〃 12
Gonad	4±2	2±2	16±3	−1±2	5±2	〃 12
Stomach content	2±2	1±2	9±3	44±3	3±2	〃 12

* The analysis of marked tissues proceeded upon the method-I by which the alkaline earths were precipitated as carbonates after the separation of the metals of group III, and the others were treated with the method-II, which precipitated the alkaline earths as sulfates.

Table 2. Group separation of radioisotopes contained in various tissues of dolphin (Specimen, No. 8).

Tissue	Radioactivity (c.p.m.)					Date of counting
	Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	
Muscle*	2±2	6±2	29±3	0±2	1±3	July 13
Gill	−1±3	3±2	51±3	−2±3	2±3	〃 24
Skin	9±3	−2±4	25±4	6±4	1±4	〃 26
Stomach*	4±3	−2±3	89±4	1±3	−1±3	〃 20
Liver*	185±5	2±3	419±10	7±3	3±3	〃 23
Gonad	54±3	0±3	19±4	4±4	2±4	〃 26
Bone	−1±3	1±3	5±3	0±3	2±3	〃 22
Stomach content	4±4	−2±4	15±4	16±4	1±4	〃 26
Pyloric coeca*	5±2	0±2	139±5	3±2	−1±2	〃 22
Gall bladder	275±8	−4±4	49±5	113±6	−2±4	〃 26
Heart	13±4	1±4	193±5	1±4	0±4	〃 26
Intestine	9±4	−4±4	2±4	19±4	0±4	〃 26

胃肝臓及び幽門垂であり，他は方法IIによつた。骨及び腸を除き総ての組織に於て方法の如何に拘らず第3属に放射能が認められ，胃内容物，胆嚢及び腸に於ては第4属に可成り放射能が来る。第2属の放射能が殆ど認められないのはオキサワラと同様である。

カツオに於ける分属

実験に使用したカツオは俊鶻丸がビキニ海域で採取した魚(6月19日漁獲; 漁獲地点15°03′N, 163°15′E; 魚体番号26) であり，その魚体の放射能強度は距離 1 cm，科研 Radiation counter で 7,100 cpm (6月19日計測) のものであり，生肉 1 g は 150 cpm (6月19日計測) あつたものである。この放射能汚染カツオにつき組織に含まれる放射性元素の分属を行つた結果は第3表の如くである。

この表からオキサワラ及びシイラと同様第3属の放射能が極めて高く，また筋肉，血合肉，幽門垂，生殖巣、心臓、胃、肝臓及び腸の第4属と幽門垂，胃及び腎臓の第2属にも可成りの放射能が見出される。第3属の放射能は2つの亜属 A 及び B に共に出ているが，このうち腎臓の第3属 A (1,325 cpm) を稀塩酸に溶かし、担体として Fe, Ce 及び Zn イオンを加えて再沈を行い，更に A, B 両区分に分けたところ，A 区

Table 3. Group separation of radioisotopes contained in various tissues of skipjack (*Euthynnus pelamys*).

Tissue	Radioactivity (c. p. m.)						Date of counting
	Group I	Group II	Group III		Group IV	Group V	
			A	B			
Muscle	14±3	3±2	300±6		83±4	−2±2	Aug. 26
Dark muscle	17±3	6±2	502±11		240±8	11±4	Sept. 29
Pyloric coeca	362±10	2,710±24	34,235±130		23,179±116	16±3	Aug. 30
Gonad	9±3	5±3	863±10		447±7	5±3	〃 30
Heart	35±6	7±3	2,820±32		859±18	6±3	Sept. 2
Spleen	97±4	1±2	630±14		2±2	−4±2	Oct. 26
Stomach	232±8	67±5	764±17	2,015±32	2,506±36	−2±3	Nov. 11
Kidney	232±8	1,027±23	1,325±26	1,493±23	38±5	−5±4	〃 11
Liver	315±9	52±5	5,390±74	5,837±77	191±7	16±4	〃 15
Intestine	88±6	34±4	208±7	202±7	190±7	3±3	〃 16
Gill filament	6±3	4±3	47±4	20±4	6±3	−3±3	〃 30
Gill arch	7±3	−3±3	23±4	88±5	10±3	——	〃 30
Skin	−1±3	9±3	55±5	288±8	6±4	2±3	Dec. 14
Bone	2±3	4±3	10±4	9±4	2±3	−3±3	〃 14

分に 413 cpm，B 区分に 376 cpm と云う値が得られた。これは恐らく第3属 A の沈澱で水酸化鉄が他のイオンを吸着するため，B に行くべきイオンを吸着して共沈したものと思われる。これからすると再沈を行わない場合の第3属 B の値は実際の値よりも大部低くなろう。

メバチに於ける分属

第1報に於ける No. 15 のメバチ，No. 16 のキハダの筋肉，血合肉，腎臓，更に No. 11 のシイラ筋肉，No. 9 のシイラ肝臓及び俊鶻丸の採つたクロカワ（魚体番号 98）肝臓について分属を行つた結果は第4表の如くである。

Table 4. Group separation of radioisotopes contained in various tissues of some fishes.

Specimen number	Species of fish	Tissue	Radioactivity (c.p.m.)					Date of counting
			Group I	Group II	Group III	Group IV	Group V	
15	Big eyed tuna	Muscle	0±2	2±2	9±2	−1±2	3±2	Aug. 18
		Dark muscle	8±2	0±2	35±3	5±3	3±2	〃 19
		Kidney	164±5	2±2	412±7	9±2	−1±2	〃 19
16	Yellow-fin tuna	Muscle	1±2	−5±2	8±2	−3±2	2±2	〃 24
		Dark muscle (deep layer)	14±3	−1±2	101±4	−4±2	2±3	〃 23
		Kidney	60±4	1±2	2,062±21	−2±2	1±2	〃 23
11	Dolphin	Muscle	−3±2	−4±2	31±3	−1±2	5±2	July 2
9	〃	Liver	71±4	5±2	771±13	−3±2	−2±2	June 30
	Black marlin	〃	287±6	412±7	3,819±44	18±3	43±3	July 13

この表からして，之等の試料は第3属の放射能が高く，これに対し第4属の放射能は殆ど試められないことが判る。更にクロカワに於ては第2属に多少の放射能が認められたが，他の試料では殆ど認めることができなかつた。

考　　察

以上の結果から見るに，最も特徴的なことは第3属の放射能の値が特に大きいことである。分析方法の項

で述べた様に，我々の用いた方法による第３，第４属の分属は充分でない。しかし方法Ⅱによるときはすべての第３属とは云い得ないにしても，セリウムの如き放射性元素を除いた第３属の値は得られる筈であり，この方法による値に於ても，少数の試料を除くの他，他の属の値より大になつていることから，放射能汚染魚の組織に含まれる放射性元素として第３属の元素が多いと云い得よう。

この結果は福龍丸から採取された灰[2]，ビキニ近海の海水[3]及び汚染農作物[4,5]の放射定性分析結果と一見同一傾向を示す如くであるが，之等のものは第３属中Ａの放射能が極めて高く，Ｂは殆ど認められない。これに反し，汚染魚に於ては，カツオ各組織の分属結果（第３表）から明かな如く，第３属Ｂにも放射能が認められ，しかもカツオ腎臓の第３属についての我々の実験及び森・佐伯の報告[6]，河端・三浦の報告[6]からして，Ｂに属する放射性元素の方がむしろＡに属するものより多いと思われることは注目すべき事柄であろう。このことはまた生物が汚染海水中に於て種々の放射性元素のうち特定のものを選択的に吸収すると云う推定に対する有力な裏づけとなるとも考えられる。

第１属の放射能は組織によつて可成り認められる。之は分析操作上，陽イオンとしての第１属金属以外に塩酸不溶性物質が含まれ，本来は試料を完全に溶解した検体につき分析を行うべきものである。また第５属の放射能は一般に低いが，之は第４属又は第３属を分離した濾液を濃縮，乾固したものであり，したがつて放射線の自己吸収が大きく，実際の放射能強度は大きくとも見掛け上余程低く出て来よう。よつて分析上の操作から云えば第５属も検体を更に灰化して自己吸収を極力さけ計測するのが好ましい。しかしこの研究は迅速に魚体組織中に含まれる放射性元素の質的相異を明かにすることを目的としたため，之等の点を犠牲にせざるを得なかつた。

第２属の放射能はカツオの幽門垂及び腎臓に可成り認められるが，余りにも例数が少いので今後の検討をまたねば何とも云えない。第４属の放射能は可成りの試料について認められるが，方法Ⅱによるときは少くともセリウムがこの属に混入して来るから，第４属に放射能が認められると云つて直ちにアルカリ土類の存在を推定することは困難である。この属は人体に対する許容量から云つて最も危険な Sr^{90} を含むものであるので，今後なお綿密な分析を行うべく実験継続中である。

以上の点から魚の組織によつては，含有する放射性元素が多かれ少なかれ異ることが考えられる。このことは，放射能が弱い試料で充分でないが，シイラ（No. 8）組織の吸収曲線(第１図，アルミニウム箔使用)からも或る程度推定できる。組織に含まれている放射性元素が何であるかについては，何分放射能強度が小さいため，その決定には多大の労力と時間を要し容易でないが，筋肉を主として目下検討中である。

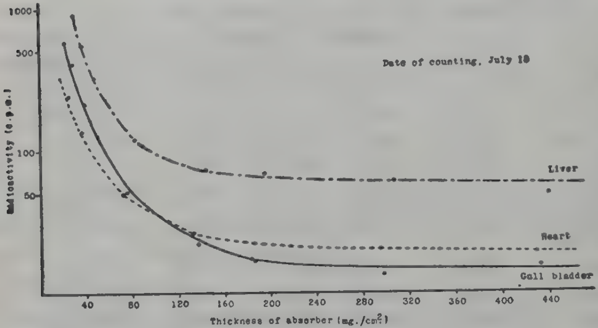


Fig. 1. Absorption curve of ashed tissues of a dolphin (Specimen, No. 8).

終りに臨み分析方法について討論して頂いた予防衛生研究所河端俊治技官，東京大学講師佐伯誠道氏，また本研究を遂行するに当り多大の便宜を供与された蚕糸試験場横山場長，清水化学部長，森技官に深謝の意を表すると共に，本研究の一部分析は東海区水産研究所尾藤方通技官及び罐詰協会研究部田中昭二氏の労をわずらわしたことを附記する。なお本研究経費の一部は，厚生省よりの放射能被害調査研究費によつた。記して謝意を表わす。

文　　献

1) TREADWELL, F.P. & HALL, W.S. : *Analtical Chemistry*, 7 th Ed., Vol. 1, p. 250 (1937).
2) 木村健二郎・南英一他 15 氏 : 分析化学, 3, 335 (1954).
3) 杉浦吉雄 : 自然, 9, 15 (1954).
4) 農業技術研究所化学部放射能班編 : ビキニ水爆実験に伴う農作物の放射能汚染に関する資料(その1) 7 月 10日 (1954).
5) 江川友治・自然, 9, 56 (1954).
6) 日本水産学会，関東支部 11 月例会発表。

放射能汚染魚に関する研究—III. Zn^{65} の確認について

山田金次郎・戸沢晴己・天野慶之・高瀬明
(東海区水産研究所)　(国立公衆衛生院)

Studies on the Radioactivity in Certain Pelagic Fish—III. Separation and Confirmation of Zn^{65} in the Muscle Tissue of a Skipjack

Kinjiro YAMADA, Harumi TOZAWA, Keishi AMANO, and Akira TAKASE

Ashed sample of the muscle tissue of skipjack, which was caught by "Shunkotsu-Maru" on June 19th near Bikini Atoll was used for the present study. Ion exchanger method, using Dowex 50, was applied to separate radioactive elements with 0.2 N HCl, 0.5 % oxalic acid and 5 % ammonium citrate (pH 3.53, 4.18, 4.60, 5.02, 5.63 and 6.42) as the eluents. Elution curve of the ashed muscle is shown in Fig. 1.

Appreciable amounts of cathionic radioactive elements were separated by 0.5 % oxalic and by 5 % ammonium citrate at the pH of 4.18 and also anionic radioactive elements were obtained by 0.2 N HCl. As the fraction, which can be withdrawn by ammonium citrate at pH 4.18, was proved the most active; further analysis was undertaken according to the scheme cited in Figs. 2 and 5. In addition to these chemical separation, absorption curve of this specimen with tin foil was examined simultaneously (Fig. 3) and thus the radioactive Zn^{65} was confirmed to be present in the fish muscle.

Although it was difficult to detect radioactivity in rare-earth and alkaline-earth groups in the muscle tissue, attempts are being made for more precise examination.

緒　言

第2報に於て，南方水域で漁獲された放射能汚染魚中オキワラ及びシイラ，並に俊鶻丸がビキニ海域調査に於て採取した放射能汚染カツオその他の魚の組織について担体を用いる放射定性分析を行い，その分属結果から之等放射能汚染魚組織中には第3属に属する放射性元素が可成り存在し，しかも第3属Bに属する元素が含まれていることを明かにした。しかし之等の組織に含まれている放射性元素を，一つ一つの組織について分離，決定して行くことは，多くの組織に於てその放射能が低く，分析に多大の労力と時間を要し，実際上不可能であるので，組織に含まれる放射性元素の分離決定については利用価値上最も重要な組織，則ち筋肉について分析を行うこととした。すでに第1報に於て報告した如く，筋肉の放射能は他の組織に比べて低く，魚によつては殆ど放射能が認められないものがあるため，本報告では俊鶻丸が採取した放射能汚染魚中最も放射能強度の大きなカツオ（魚体番号 26 ）の筋肉について分析を行うこととし，カツオ筋肉中に Zn^{65} が存在することを確認したので，その結果をここに報告する。

実験及び実験結果

カツオ筋肉に含まれる放射性元素のイオン交換樹脂による分離

カツオ筋肉を約 500°C で灰化し，その灰1g を 0.2N 塩酸で溶解，濾過して濾液を 100 cc としたものを試料液とした（溶液 2 cc 当りの放射能は 95 cpm)。次にこの試料液を予め HR 型とした陽イオン交換樹脂 Dowex 50 (20～50 メッシュ) 50 g を詰めた樹脂柱（φ 9 mm ×61 cm）に通して陽イオンを吸着させた

1955年 1 月 29 日受理　東海区水産研究所業績 B 第196号（印刷費負担）

後，木村等[1]の方法に基いてまず樹脂を0.2N 塩酸で洗つた後，0.5％シユウ酸,5％クエン酸アンモン(pH 3.53, 4.18, 4.60, 5.02, 5.63, 6.42）の各種溶離液で順次溶離を行い，得られた溶出液を夫々 20 cc づつに分割採取し，濃縮してステンレス製試料皿に移し，更に乾固して放射能を計測し（科研 32 型 Radiation counter，距離 16 mm)，第1図の如き溶離曲線を得た。なお pH 6.42 のクエン酸アンモンで溶離を終つた後の樹脂を灰化し（灰分量，4.1 g)，之をガラス皿（φ 43 mm）にとり，距離 24 mm で放射能を計測した結果は 7 cpm であつて，上記の処理によりカツオ筋肉中に含まれる殆どすべての放射性元素が溶離して来ることが判つた。

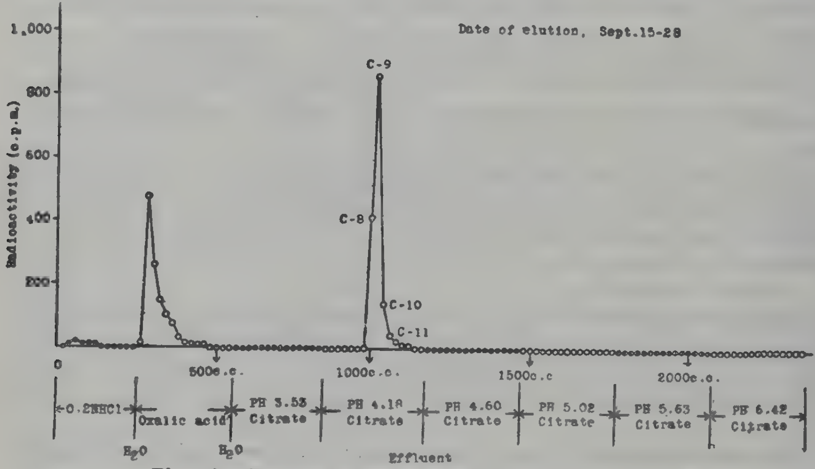


Fig. 1. Separation of radioisotopes contained in the muscle of skipjack by complex elution of ion exchange resin.

第1図よりカツオ筋肉中には 0.5％シユウ酸並に pH 4.18 クエン酸アンモンで溶離する陽イオンとしての放射性元素が存在する以外に，放射能的には僅少であるが 0.2N 塩酸で溶離する陰イオンとしての元素も含まれることが判る。

クエン酸アンモン溶離元素の同定

次にイオン交換樹脂によつて分離されたカツオ筋肉中の放射性元素の同定，確認を行うこととしたが，これよりさき岡野[2]はこの報告と同じカツオ筋肉灰を用い，Scintillation counter によるγ線分析から Zn^{65} の存在を推定したので，我々は pH 4.18 のクエン酸アンモン溶離元素がそれに相当するものと考え，以下述べる様に，この元素について放射定性分析による分属，吸収曲線の測定並にイオン交換樹脂による再溶離の3つの方法によつて主として放射化学的な立場から検討を行つた。

放射定性分析による分属： イオン交換樹脂により分離された pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分のうち，最も放射能の強いフラクションC—9を残して（吸収曲線測定のため）他のC—8，C—10 及びC—11 の各フラクションを合し，濃縮乾固した後，之を約500°C で再び灰化し，この灰について第1属から第5属までの担体各 10 mg を加え放射定性分析を行つた結果は第2図の如くである。

第2図により，pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分中の3つのフラクションに存在する放射性元素は，すべて第3属に行き，さらに第3属中のアルミニウム亜属の亜鉛フラクションに行くことが判る。なおニツケル，鉄亜属，更にはアルミニウム・フラクションにも多少放射能が残るが，この程度は亜鉛フラクションに行く放射性元素の放射能による汚染と考えるのが妥当であろう。

吸収曲線の測定： 使用したフラクションは pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分のうち，最も放射能の強いフラクションC—9であり，之を濃縮乾固した後灰化したが，灰分量は 0.19 g であつて多量の夾雑物が混入していることを認めたので，之を稀塩酸に溶解した後，Zn イオン数 mg を加え，塩化アンモン添加

後，アンモニアでアルカリ性として夾雑物を除き，濾液に硫化水素を通して生ずる沈澱を遠心分離によつて集めて精製試料とした。この試料について錫箔を用いて吸収曲線を求め，之と別にオキサワラ（No. 5）の筋肉灰に Zn^{65} を添加した試料について同様にして求めた吸収曲線と比較すると第3図の如くなつた。

その結果から，pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分中のフラクションC—9に存在する放射性元素の吸収曲線は Zn^{65} のそれと極めてよく似ていることが判る。

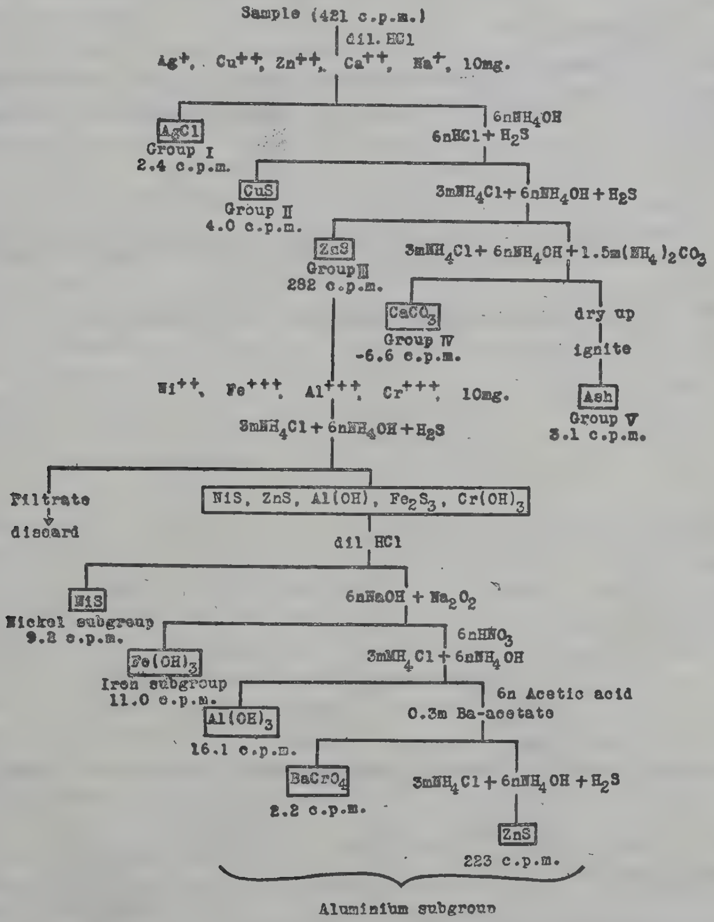


Fig. 2. Group separation of radioisotope eluted by ammonium citrate (pH 4.18). Date of analysis, Oct. 13 ~ Nov. 11.

イオン交換樹脂による再溶離： 再溶離により pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分の検討を行う前に，Zn^{65} がクエン酸アンモンのどの pH で最も良く溶離するかについて先づ検討を行つた。その方法は予め NH_4R 型にした Dowex 50 の樹脂柱（φ9 mm×24cm）に Zn^{65} を吸着させた後，各種 pH のクエン酸アンモンで溶離を行つて溶離曲線を求めたのであるが，その成績は第4図の如くで，これより Zn^{65} は pH 4.1 で良く溶離されることが判る。

そこで試料として吸収曲線の測定を終つたフラクションC—9を用い，之を少量の 0.2 N 塩酸に溶解して，更に Zn^{65}をほぼ同カウントになる様に加えた後，NH_4R 型 Dowex 50の樹脂柱（φ9 mm×24 cm）に流

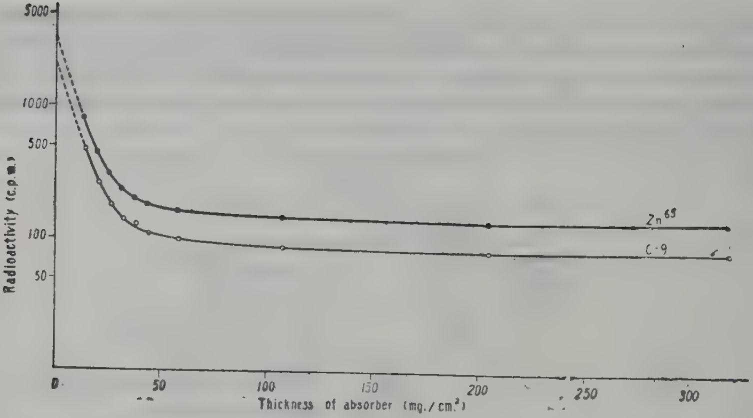


Fig. 3. Absorption curve of radioisotope eluted by ammonium citrate (Date of counting, Oct. 1).

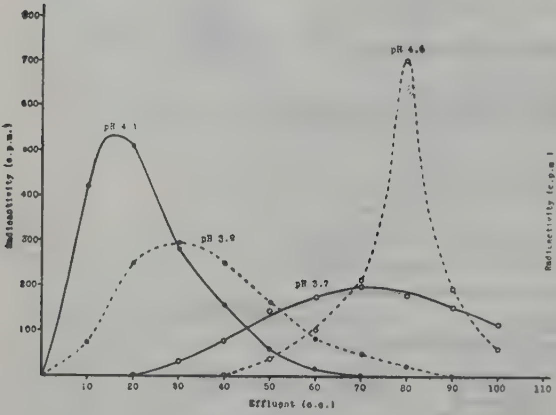


Fig. 4. Elution curves of Zn^{65} treated with ammonium citrate of various pH ranges.

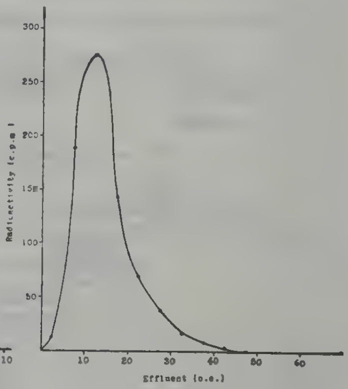


Fig. 5. Elution curve of the mixture which contains Zn^{65} and the radioisotope eluted by ammonium citrate(Date of elution, Nov. 26).

して吸着させ，1.5 cc/cm²/min の流速で先ず pH 3.5 のクエン酸アンモンで溶離を行い，この溶離部分には放射能が検出されないことを確めてから* pH 4.1 で溶離を行い，流出液は 5 cc づつのフラクションに分け，その 3 cc をとつて濃縮乾固後，放射能を計測して溶離曲線を求めた。その成績は第5図の通りであるが，なお溶離完了後の樹脂の放射能は灰化して測定した結果 6 cpmであつた。

第5図により再溶離の結果，加えた Zn^{65} と全く分離出来ない溶離曲線が得られたことが判る。

考　　察

カツオ筋肉灰を予め HR 型となした Dowex 50 に流し込み，種々の溶離液で処理し，筋肉には 0.5% シ

* この部分には稀土類が溶離して来る。

ユウ酸と pH 4.18 クエン酸アンモンで流出する陽イオンとしての放射性元素が存在し，その他に放射能的には僅少であるが，陰イオンとしての放射性元素も含まれていることを明かにした（第1図)。0.5 %シュウ酸で溶離する元素として TOMPKINS 等[3] はプルトニウムの核分裂物質からジルコニウム及びニオブを，木村等[1] は福龍丸の降灰に於てこの他にウランを分離している。カツオ筋肉中 0.5 %シュウ酸で溶離する放射性元素については目下検討中であり，他日報告することが出来るであろう。

次に第1図に於て注目すべきことは，pH 3.53 のクエン酸アンモン部分に放射能が認められないことで，TOMPKINS [3]等によればこの部分には希土類が溶離して来るとされている。したがつてこの成績により一見今回のカツオ筋肉中には，放射性の之等希土類が存在していないと認められそうであるが，本分離を行つた後でこの pH 3.53 での溶離操作に欠陥のあつたことを見出した。と云うのは，この際の溶離液量が希土類を溶出するために不充分であつたことである。則ち HR 型の樹脂を NH_4 型に変えるために相当量のクエン酸アンモンが消費され，希土類の溶出を行うにはクエン酸アンモンの量が不足であることを後に確めたからである。したがつて，カツオ筋肉に於ける希土類の存否を明かにするためには，更に多量（700 cc 程度）のクエン酸アンモンを必要とする。したがつてもし希土類が存在すれば，第1図の pH 4.18 クエン酸アンモン部分に来るものと考えられ，事実 Ce^{144} を使つて同じ条件下で溶離を行うと，この元素は pH 4.1クエン酸アンモンで溶出する。しかしながら第1図の pH 4.18 クエン酸アンモンで溶出する元素は，後に述べる様に総て Zn^{65} と見做されるから，カツオ筋肉中には放射性の希土類は恐らく存在していないと云えよう。ところで希土類は核分裂に於て多量に生成し，福龍丸降灰に関する木村等の分析に於てもその存在が確認され，また Washington 大学の Applied Fisheries Laboratory が行つた調査[4] でも原爆実験地で採れた魚の放射能が殆ど Ce^{144} とその娘としての Pr^{144} によることが報告されている。したがつて3月1日の水爆実験による降灰中に多量に存在し，しかも原爆実験地で採れた魚に見出されている放射性希土類乃至は Ce^{144} が，一連の水爆を含めた原爆実験によつて汚染されたカツオ筋肉中に存在しないのは注目すべきことであろう。

次に注目すべきことは，第1図の pH 4.6 以上のクエン酸アンモン部分に放射能が認められないことである。この部分は容易に $Citrate^{---}$ と錯イオンを形成するアルカリ土類が来るので，一応カツオ筋肉にはアルカリ土類が存在しない様に見られるが，溶出液は灰化することなく蒸発乾固して放射能を計測したため，自己吸収が大きくアルカリ土類の有無を断定し得ない憾みがあり，しかも放射性アルカリ土類金属中，Ca^{45}，$Sr^{89,90}$ 等は人体に対し危険な元素とされ，KNOBF[5] は淡水魚肉中に之等が含まれることを報告し，木村等[1] は福龍丸降灰に之等の存在を認めているので，果して被検魚に之等元素が存在するか否かについては，第4属に強い放射能を有する組織（第2報参照）を用い，目下検討を行いつつある。

最後に第1図に於て最も特徴的なのは pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分に強い放射能が認められることである。我々はすでにその存在を γ 線分析により推定されていた Zn^{65} が，この部分に溶出して来るものと考え実験を進めたが，何分にも試料の放射能が弱くまた量的に充分でないため，第2図，第3図，第5図に示した様に放射定性分析，吸収曲線の測定及びイオン交換による再溶離の3つの方法を使用してその確認を行つた。則ち，放射定性分析による分属結果からクエン酸アンモンで溶離する元素は，亜鉛フラクションに行く単一な元素であると云えようし，また吸収曲線の測定結果からフラクションC—9が Zn^{65} であることはこれのみでも充分推定出来るし，またイオン交換による再溶離でも問題の元素が Zn であることは明かである。したがつて以上の結果により pH 4.18 クエン酸アンモン溶離部分のうち最も放射能の強いフラクションC—9が Zn^{65} であることは確実であり，更にこの溶離部分の放射性元素は Zn^{65} であると見做し得る。放射能汚染魚体中に Zn^{65} が存在することは前記岡野の γ 線分析による推定に基き，河端・三浦[6] がビンナガの筋肉，血合肉及び腎臓について，著者等と殆ど同じ方法でイオン交換樹脂による分離によつて明かにし，それ以後にも γ 線分析により或程度定性的に可成り広く存在することが推定されている。しかし之等は何れも俊鶻丸がビキニ海域調査に於て採取して来た試料であつて，その他の汚染魚にも Zn^{65} が存在するか否かは詳かでない。

Zn^{65} の生体に於ける代謝に関しては SHELINE 等[7] の報告がある。それによると Zn^{65} は膵臓，肝臓及び腎臓に多く集まるが，速かに消失し，骨には可成りの時間止まるらしい。しかし之等は廿日鼠及び犬に関

する実験結果であつて，魚に於ける Zn^{65} の代謝は明かでない。

終りに臨み Zn^{65} の吸収曲線について教示を頂いた科学研究所岡野真治氏，並に本研究に討議して頂いた予防衛生研究所河端俊治技官に感謝の意を表する次第である。なお本研究経費の一部は厚生省よりの放射能被害調査研究費によつた。記して謝意を表わす。

文　献

1) 木村健二郎・南真一他 15 氏： 分析化学，**3**，335 (1954).

2) 岡野真治： 私信.

3) Tompkins, E.R., Khym, J.X. and Cohn, W.E. : *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 2769 (1947).

4) Applied Fisheries Laboratory, Univ. of Washington : AECD-3446, July 12 (1950).

5) Knobf , V.I.: ORNL-1031, July 9 (1951).

6) 河端・三浦：日本水産学会，関東支部 11 月例会発表.

7) Hevesy, G. : "Radioactive Indicators", Interscience Publishers, New York (1948), 185.

水 産 物 利 用

UTILIZATION OF AQUATIC PRODUCTS

食品保藏・加工

Food Preservation and Processing

油　　脂

Fats and Oils

ビ タ ミ ン

Vitamins

皮　　革

Skin and Leather

水産食品の化学的保藏の研究—III. フラン誘導体並に既知防腐剤の殺菌力比較試験

鉄本総吾・興津知明・福田正彦
(東海区水産研究所)

Studies on Preservation of Marine Products by Chemicals—III. Comparative Test of Bactericidal Effect of Nitrofuran Derivertives and Some Preservatives

Sogo TETSUMOTO, Tomoaki OKITSU, and Masahiko FUKUDA

In the present report, bactericidal effect of nitrofuran derivatives is examined as compared with some chemicals already used for food preservative such as P-hydroxy butyl benzoate, salicylic acid. Nitrofuran compounds are found more effective in low concentration than usual food preservatives and upon the bases of these observations, method of application of the compound for fish and fish products is also discussed.

緒 言

DODD, STILMAN は 1944 年にフルフラール誘導体中ニトロフラゾーンが各種の細菌に対し強い抗菌力を示し且つ動物に対する毒性が極めて微弱であることを見出し[1] 阪大藤野氏等は 1950 年大阪市大井本氏の合成したニトロフラゾーンを使用して，種々の腸内細菌，ブドウ状球菌，枯草菌，馬鈴薯菌，脾脱疽菌，連鎖状球菌等に対する作用を研究し，ニトロフラゾーンは強力な抗菌作用を示すことを発表した。1949年阪大微生物学研究会はニトロフラゾーンを 0.002% 小豆入氷菓に添加して氷菓中の総菌数を添加後 2 日目に約 1/470 に減少させ，イチゴ氷菓では約 1/144 に菌数を減らすことができたと報告している。1950年阪大照井氏は食品に対するフラン誘導体の防腐効果を研究して，パンのロープ（ropy）防止にはパンの諸原料に対し，ニトロフラゾーンを 0.001 %以上添加すれば防止効果が著るしく，小豆餡に対しては 0.002% の添加により防腐効果が著明であると報告している[3)4)]。1950 年千葉医大相磯氏は米の重量の 0.001% ニトロフラゾーンを米に添加して米飯を作れば，17°C に於て 48 時間目に僅かに酸敗臭を発し，対照に比較して約 24 時間長く防腐することができ，0.002% 添加すれば夏期米飯の酸敗を 10 日位防止し得たと述べている。

著者は先に魚具類に対するカプリン酸，ペリラルチン，パラオキシ安息香酸ブチルエステル，安息香酸，サルチル酸，塩素剤等の鮮度保持研究を行い，酸性溶液に於けるカプリン酸及びペリラルチン等が鮮度保持上有効であることを発表した[6)7)]。著者はその後ニトロフラン誘導体と既知防腐剤の殺菌作用を比較研究し，ニトロフラン類は既知防腐剤に比べ濃度低下による殺菌力の激減が少く，且つその殺菌効果は持続的であることを認めたのでその結果をこゝに報告することゝする。

実験及び結果

供試防腐剤

ニトロフラン類として次の 4 種の防腐剤を供試した。 5-Nitro-2-furfural Semicarbazone（商品名フラスキン，略称F），5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine hydrochloride(商品名グアノフラシン，略称GF) 5-Nitro-2-furfuryl acryl amide(商品名Ｚフラン，略称ZF)，Bis-5-nitrofurfurylidine aceto neguanyhydrazone（商品名パナゾン，略称 PF），

なお比較のために使用した既知防腐剤はパラオキシ安息香酸ブチルエステル，サルチル酸及び硼酸の 3 種

1955 年 3 月 17 日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第 160 号

である。

被検細菌

被検細菌としては *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Escherichia coli communis*, *Proteus vulgaris* HAUSER, *Pseudomonas fluorescens liquefaciens*, *Bacillus subtilis* 及び *Bacillus mesentericus* の6種の菌を使用した。

之等の菌の石炭酸に対する抵抗力は第1表の如くであつて，抵抗力は消毒剤標準検定法に依つて求めたものである。

Table 1. Bactericidal power of phenol to the test organisms.

Period of exposure (min)	Concentration of phenol						
	1%	1%	1%	1%		5%	5%
	Organismus tested						
	Staphylococcus pyogenes aureus	*Escherichia coli communis*	*Proteus vulgaris*	*Pseudomonas fluorescens liquefaciens* R*	*Pseudomonas fluorescens liquefaciens* S**	*Bacillus subtilis*	*Bacillus mesentericus*
5	+	+	+	+	+	+	+
10	−	+	+	+	−	+	+
15	−	+	+	+	−	+	+
20	−	+	+	+	−	+	+
30	−	−	+	+	−	+	+
45	−	−	−	+	−	+	+
60	−	−	−	+	−	+	±
120	−	−	−	−	−	±	−
180	−	−	−	−		−	−

Plus sign (+) signifies that bacterium was alive; minus sign (−) signifies that bacterium was dead. (±) signities that bacterium was sometimes aliveor dlad

* Resistant strain　　** Sensitive strain

この結果によると，被検菌中 *Staphylococcus pyogenes aureus* は普通菌種に比べ，石炭酸に対する抵抗力が弱過ぎ，*Eschetichia coli*, *Proteus Vulgalis* は強過ぎるものの如くである。なお *Pseudomonas fluorescens* は耐性株と感受性株との2菌種を使用した。

ニトロフラン類の殺菌力

被検防腐剤のうち，ニトロフラン類と既知腐防剤の殺菌力を比較する目的を以つて本実験を行つた。実験方法は次の如くである。まず各防腐剤を殺菌生理的食塩水に溶解して 0.02, 0.01, 0.002, 0.001 及び 0.0005 %液を作り，之等供試防腐剤液 10 cc に対し 30°C, 24時間培養した6種の被検菌培養液 0.2 cc を夫々加え，恒温 20 C に放置し，一定時間毎に後培養して菌の生死を観察した。得られた結果は第2表の如くである。

なお 0.0005% 防腐剤液に於ては被検菌すべてが 33 日に至るも死滅しなかつたので，その結果は表より省略した。この表の結果より次のことが判る。

ニトロフラン類はグラム陽性芽胞細菌に対し比較的強い殺菌作用を示すが，グラム陰性である大腸菌及び *Proteus Vulgaris* に対してはその殺菌力は差程大きくなく *Pseudomonas fluorescens* に対しては甚だ弱い。また一般にニトロフラン類中 PF と ZF 及び F と GF とは夫々略々同程度の殺菌効力を示し，前二者は後の二者より殺菌効力が大である。更にニトロフラン類は濃度が低下してもその殺菌力は必ずしも激減しない特長があり，この点パラオキシ安息香酸ブチルエステル，サルチル酸及び硼酸とその性質を異にしている。

ニトロフラン類の細菌死滅速度に及ぼす影響

前実験に於てニトロフラン類は濃度が低下してもその殺菌力は必ずしも激減しない特長を有することが判つたので，腐敗細菌の死滅速度に及ぼすニトロフラン類の影響が既知防腐剤であるパラオキシ安息香酸ブチ

Table 2 Bactericidal power of nitrofuran compounds compared with some preservatives

Preservative	Organisms tested: *Bacillus subtilis*				*Bacillus mesentericus*				*Escherichia coli communis*			
	Concentration of preservative (%)											
	0.02	0.0	0.002	0.001	0.02	0.01	0.002	0.001	0.02	0.01	0.002	0.001
5-Nitoro-2-furfural semicarbazone	5±,7−	5+,7−	8+,10−	15+,20−	3±,4−	3±,4−	6+, 8−	12+,15−	10+,12−	10+,12−	12±,15−	33±
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	3±,5−	3±,5−	5+, 7−	10±,12−	2±,3−	2+,3−	4+, 5−	8+,60−	5+, 6−	5+, 6−	6+, 8−	12+,20−
5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine HCl	5+,7−	5+,7−	8+,10−	15+,20−	3±,4−	3+,4−	8+,10−	15+,20−	8+,10−	10±,12−	12+,15−	33±
Bis-5-nitrofurfurylidine acetoneguanyl hydrazone	3+,5−	3+,5−	5±, 7−	12+,15−	1+,2−	1+,2−	5+, 6−	10+,12−	5+, 6−	5+, 6−	8±,10−	18±,21−
P-Hydroxy-butylbenzoate	33+	33+	33+	33+	33+	33+	33+	33+	4+, 5−	8+,10−	33+	33+
Salicylic acid	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	5+, 6−	10+,12−	〃	〃
Boric acid	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	33+	33+	〃	〃
Control	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃

Preservative	Organisms tested: *Proteus vulgaris*				*Pseudomonas fluorescens liquefaciens* (Resistant strain)				*Pseudomonas fluorescens liquefaciens* (Sensitive strain)			
	Concentration of preservative (%)											
	0.02	0.01	0.002	0.001	0.02	0.01	0.002	0.001	0.02	0.01	0.002	0.001
5-Nitro-2-furfural semicarbazone	8+,10−	8±,9−	10+,12−	15+,20	33+	33+	33+	33+	88+	33+	33+	33+
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	5±, 6−	4+,5−	5+, 6−	10+,14	〃	〃	〃	〃	24+,30−	24+,30−	〃	〃
5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine HCl	7+, 8−	7+,8−	10+,12−	20+,24	〃	〃	〃	〃	33+	33+	〃	〃
Bis-5-nitrofurfurylidine acetoneguanyl hydrazone	4+, 5−	3+,4−	6+, 7−	12+,14	〃	〃	〃	〃	24+,30−	24+,30−	〃	〃
P-Hydroxy-butyl-benzoate	2±, 3−	3+,4−	20+,24−	33+	10+,12−	20+,24−	〃	〃	3+, 5−	10+,14−	〃	〃
Salicylic acid	3+, 4−	4±,5−	24+,30−	〃	12+,15−	24+,33−	〃	〃	5+, 7−	14+,20−	〃	〃
Boric acid	33+	33+	33+	〃	33+	33+	〃	〃	33+	33+	〃	〃
Control	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃

Numeral signifies the period of exposure (time in days).

ルエステル，サルチル酸及び硼酸とどのように異なるかをみるため，次の如き実験を行つた。まず 30°C, 24時間培養を連続 3 日間繰り返して得た被検菌培養液を 0.2 cc 宛上記ニトロフラン類を含めて5種の濃度を異にする防腐剤液 10cc に加え，恒温 20°C に作用させ，一定時間毎に後培養を行つた。後培養は寒天平板培養法を使用し，集落数より生菌数を算出した。

Bacillus subtilis 3.1×10^8, *Bacillus mesentericus* 3.3×10^8 *Escherichia coli* 4.0×10^8 *Proteus vulgaris* 4.1×10^8, *Pseudomonas fluorescens* 4.2×10^8(耐性株)，5.1×10^8 (感受性菌) 之等5被検菌に対し各防腐剤の濃度を 0.01% より 0.0005% まで変えて，菌の死滅速度に及ぼす防腐剤の影響を調べた結果は第3表より第5表までの如くであつた。第3表は *Bacillus subtilis*, 第4表は *Escherichia coli*, 第5表は *Pseudomonas fluorescens* の死滅曲線であり，*Bacillus mesentericus* は *Bacillus subtilis* と，*Proteus vulgaris* は *Escherichia coli* とほゞ同じ傾向を示した。なお各防腐剤共その濃度が 0.0005% に達する時には被検菌の死滅速度には殆ど影響を与えなかつたので，その結果は表より省略した。この表の結果よりして次のことが判る。即ちニトロフラン類は 0.01% 及び 0.002%に於て*Bacillus Subtilis* 及び *Escherichia coli* の死滅速度を著るしく促進せしめるが，*Pseudomonas fluorescens* に対するその促進効果は微弱である。菌の死滅速度に対するニトロフラン類の促進効果はパラオキシ安息香酸ブチルエステル，サルチル酸及び硼酸と異り，濃度によつて著るしく変化せず，0.002% の濃度に於てもその効果は 0.01% の場合よりも僅かに劣るのみである。

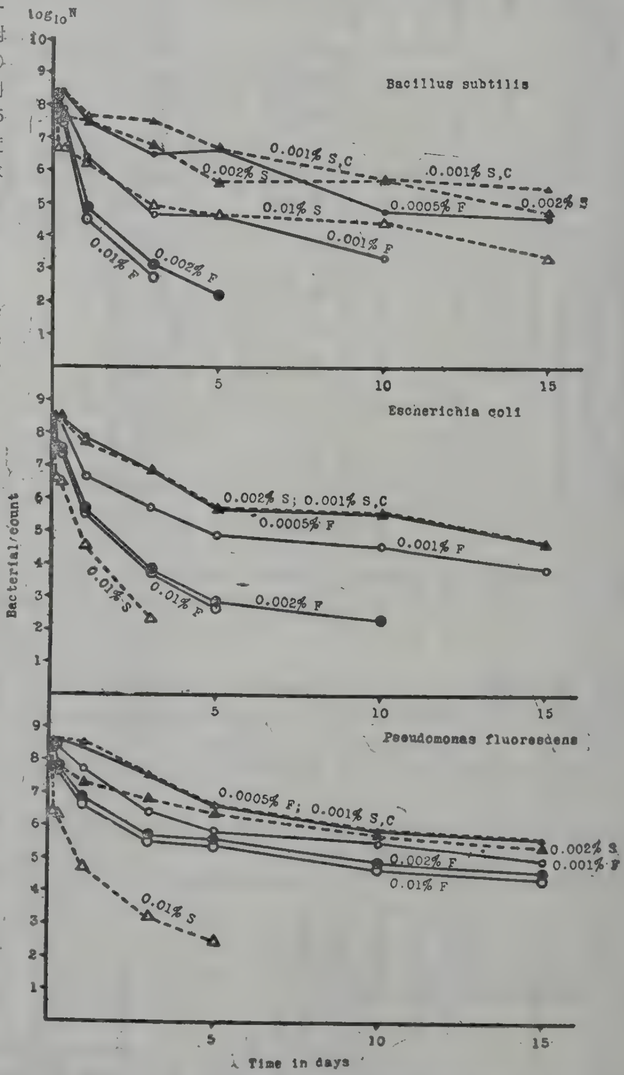


Fig. 1. Effect of 5-nitrofurfural semicarbazone and salicylic acid on the bacterial count, N.
F, 5-nitrofurfural semicarbazon ; S, salicylic acid ; C, control.

考　　察

実験結果を通観すると同種

Table 3. Effect of various nitrofuran compounds on the death rate of *Bacillus subtilis*

preservative	Concentra-ion of Preservative%	Time elapsed 0 hour	2 hours	6 hours	1 day	3 days	5 days	10 days	15 days	20 days	31 days
5-Nitro-2-furfural Semicarbazone	0.01	3.1×10^{8}	1.8×10^{6}	2.6×10^{7}	3.4×10^{4}	5.8×10^{3}	±	—	·	—	—
	0.002	〃	2.2×10^{8}	3.6×10^{7}	5.8×10^{4}	1.1×10^{3}	1.6×10^{2}	—	—		-
	0.001	〃	2.8×10^{8}	6.1×10^{7}	2.4×10^{6}	4.8×10^{4}	4.2×10^{4}	2.1×10^{3}	+		
	0.0005	〃	3.0×10^{8}	2.6×10^{8}	4.8×10^{7}	3.2×10^{6}	4.8×10^{6}	5.8×10^{4}	3.8×10^{2}	+	+
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	0.01	〃	2.2×10^{7}	3.6×10^{6}	1.4×10^{4}	±	±	—	—	—	-
	0.002	〃	2.8×10^{7}	3.8×10^{6}	3.2×10^{4}	1.9×10^{2}	±	—	—	—	—
	0.001	〃	2.2×10^{8}	2.6×10^{7}	1.6×10^{6}	3.8×10^{4}	2.2×10^{3}	—	—	—	—
	0.0005	〃	3.0×10^{8}	2.1×10^{8}	4.4×10^{7}	2.8×10^{6}	2.6×10^{6}	3.8×10^{4}	2.6×10^{4}	—	—
5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine HCl	0.01	〃	1.2×10^{8}	1.4×10^{7}	2.4×10^{4}	9.6×10^{2}	1.5×10^{2}	—	—	—	—
	0.002	〃	1.9×10^{8}	2.2×10^{7}	4.4×10^{4}	1.6×10^{3}	2.8×10^{2}	—	—	—	—
	0.001	〃	2.4×10^{8}	5.8×10^{7}	2.6×10^{6}	4.9×10^{4}	4.5×10^{4}	2.3×10^{3}	1.3×10^{2}	—	—
	0.0005	〃	3.0×10^{8}	2.6×10^{8}	4.4×10^{7}	3.4×10^{6}	5.0×10^{6}	6.1×10^{4}	3.6×10^{4}	+	+
Bis-5-nitro-furfurylidine acetoneguanylhydrazone	0.01	〃	2.1×10^{7}	3.4×10^{6}	1.8×10^{4}	2.8×10^{2}	±	—	—	—	—
	0.002	〃	2.7×10^{7}	3.8×10^{6}	3.8×10^{4}	1.3×10^{3}	2.2×10^{2}	—	—	—	—
	0.001	〃	2.1×10^{8}	3.2×10^{7}	1.8×10^{6}	4.5×10^{4}	3.5×10^{3}	1.6×10^{2}	+	—	—
	0.0005	〃	3.0×10^{8}	2.1×10^{8}	4.6×10^{7}	3.2×10^{6}	3.2×10^{6}	5.2×10^{5}	3.1×10^{4}	+	+
P-Hydroxy butylbenzoate	0.01	〃	3.8×10^{6}	2.2×10^{6}	4.8×10^{5}	4.6×10^{4}	3.3×10^{4}	1.8×10^{4}	2.2×10^{3}	+	+
	0.002	〃	2.7×10^{7}	2.0×10^{7}	2.1×10^{7}	3.6×10^{6}	6.8×10^{5}	5.2×10^{5}	4.3×10^{4}	+	+
	0.001	〃	2.8×10^{8}	2.8×10^{8}	4.6×10^{7}	2.8×10^{7}	2.6×10^{6}	5.8×10^{5}	3.8×10^{5}	2.3×10^{4}	+
Salicylic acid	0.01	〃	4.6×10^{6}	4.6×10^{6}	1.5×10^{6}	6.8×10^{4}	4.4×10^{4}	2.3×10^{4}	2.3×10^{3}	+	+
	0.002	〃	7.6×10^{7}	4.1×10^{7}	3.2×10^{7}	5.4×10^{6}	7.2×10^{5}	5.8×10^{5}	5.5×10^{4}	+	+
	0.001	〃	3.0×10^{8}	2.8×10^{8}	2.2×10^{8}	3.6×10^{7}	5.6×10^{6}	6.0×10^{5}	3.8×10^{5}	+	+
Boric acid	0.02	〃	3.0×10^{8}	3.0×10^{8}	2.6×10^{7}	2.2×10^{6}	1.8×10^{6}	5.5×10^{5}	3.6×10^{6}	+	+
	0.01	〃	3.1×10^{8}	3.0×10^{8}	2.2×10^{8}	3.6×10^{7}	5.6×10^{6}	5.8×10^{5}	3.8×10^{5}	+	+
control Nacl	0.85	〃	3.1×10^{8}	3.0×10^{8}	2.2×10^{8}	3.6×10^{7}	5.6×10^{6}	6.0×10^{5}	3.8×10^{5}	2.3×10^{4}	+

Table 5(A) Effect of various nitrofuran compounds on the death rate of *Pseudomonas fluorescens* (resistant strain)

Preservative	Concentration of Preservative%	Time elapsed 0 hour	2 hours	6 hours	1 day	3 days	5 days	10 days	15 days	20 days	33 days	40 days
5-Nitro-2-furfural semicarbazone	0.01	4.2×10^{5}	2.6×10^{8}	4.4×10^{7}	4.2×10^{6}	3.1×10^{5}	2.8×10^{5}	5.6×10^{4}	2.5×10^{4}	1.8×10^{3}	1.6×10^{2}	±
	0.002	〃	3.7×10^{8}	4.6×10^{7}	6.6×10^{6}	4.4×10^{5}	3.6×10^{5}	6.3×10^{4}	3.8×10^{4}	2.6×10^{3}	2.2×10^{2}	+
	0.001	〃	4.0×10^{8}	2.8×10^{8}	5.2×10^{7}	5.4×10^{6}	6.8×10^{5}	3.1×10^{5}	8.7×10^{4}	3.3×10^{4}	3.2×10^{3}	+
	0.0005	〃	4.2×10^{8}	4.0×10^{8}	2.9×10^{8}	2.8×10^{7}	3.0×10^{6}	6.6×10^{5}	4.0×10^{5}	4.1×10^{4}	3.6×10^{3}	+
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	0.01	〃	7.8×10^{7}	9.4×10^{5}	6.8×10^{5}	1.3×10^{5}	9.5×10^{4}	3.4×10^{4}	7.6×10^{3}	3.4×10^{2}	±	—
	0.002	〃	3.6×10^{8}	3.4×10^{7}	3.7×10^{6}	3.1×10^{5}	2.0×10^{5}	5.7×10^{4}	2.0×10^{4}	3.7×10^{2}	1.8×10^{3}	+
	0.001	〃	3.8×10^{8}	8.3×10^{7}	3.1×10^{7}	3.6×10^{6}	6.8×10^{5}	2.2×10^{5}	7.6×10^{4}	2.3×10^{3}	2.6×10^{3}	+
	0.0005	〃	3.8×10^{8}	3.8×10^{8}	3.0×10^{8}	3.8×10^{7}	2.6×10^{6}	6.5×10^{5}	3.4×10^{5}	3.5×10^{4}	3.2×10^{3}	+
5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine HCl	0.01	〃	2.2×10^{8}	3.4×10^{7}	4.3×10^{6}	3.8×10^{5}	2.9×10^{5}	6.1×10^{4}	4.0×10^{3}	2.8×10^{3}	2.1×10^{2}	+
	0.002	〃	3.6×10^{8}	4.8×10^{7}	6.8×10^{6}	4.8×10^{5}	3.8×10^{5}	6.8×10^{4}	5.2×10^{4}	3.0×10^{4}	2.8×10^{2}	+
	0.001	〃	3.9×10^{8}	2.4×10^{8}	5.0×10^{7}	5.6×10^{6}	7.2×10^{5}	4.3×10^{5}	1.1×10^{5}	3.9×10^{4}	3.6×10^{3}	+
	0.0005	〃	4.0×10^{8}	4.0×10^{8}	3.6×10^{8}	2.8×10^{7}	3.2×10^{6}	6.6×10^{5}	4.1×10^{5}	4.2×10^{4}	3.8×10^{3}	+
Bis-5-nitrofurfurylidine acetoneguanyl hydrazone	0.01	〃	2.7×10^{7}	7.3×10^{6}	6.2×10^{5}	2.6×10^{5}	1.3×10^{5}	4.3×10^{4}	2.2×10^{4}	2.1×10^{3}	1.1×10^{2}	—
	0.002	〃	3.4×10^{7}	3.1×10^{7}	3.9×10^{6}	3.3×10^{5}	3.1×10^{5}	6.0×10^{4}	4.0×10^{4}	2.8×10^{3}	2.4×10^{2}	+
	0.001	〃	3.6×10^{8}	8.1×10^{7}	2.1×10^{7}	3.9×10^{6}	7.0×10^{6}	2.8×10^{5}	7.8×10^{4}	3.8×10^{4}	2.8×10^{3}	+
	0.0005	〃	3.8×10^{8}	3.8×10^{8}	3.0×10^{8}	2.8×10^{8}	3.0×10^{6}	6.6×10^{5}	4.1×10^{5}	4.1×10^{4}	3.8×10^{3}	+
P-Hydroxy butylbenzoate	0.01	〃	2.6×10^{6}	2.0×10^{6}	3.9×10^{4}	6.3×10^{2}	—	—	—	—	—	—
	0.002	〃	4.6×10^{7}	3.1×10^{7}	8.8×10^{6}	4.8×10^{6}	1.2×10^{6}	5.6×10^{5}	1.6×10^{5}	3.6×10^{4}	3.2×10^{2}	+
	0.001	〃	3.8×10^{8}	3.8×10^{8}	3.1×10^{8}	2.8×10^{7}	3.3×10^{6}	6.6×10^{5}	3.9×10^{5}	4.2×10^{4}	3.8×10^{3}	+
Salicylic acid	0.01	〃	2.8×10^{5}	2.7×10^{6}	5.8×10^{4}	1.8×10^{3}	2.8×10^{2}	—	—	—	—	—
	0.002	〃	6.8×10^{7}	4.8×10^{7}	2.2×10^{7}	6.2×10^{6}	2.5×10^{6}	6.0×10^{5}	2.6×10^{5}	4.0×10^{4}	3.5×10^{3}	+
	0.001	〃	4.0×10^{8}	3.8×10^{8}	3.1×10^{8}	2.8×10^{7}	3.3×10^{6}	6.6×10^{5}	4.0×10^{5}	4.2×10^{4}	3.8×10^{3}	+
Boric acid	0.02	〃	4.1×10^{8}	3.9×10^{8}	3.0×10^{8}	2.7×10^{7}	3.2×10^{6}	6.6×10^{5}	3.8×10^{5}	3.8×10^{4}	3.8×10^{3}	+
	0.01	〃	4.2×10^{8}	4.2×10^{8}	3.1×10^{8}	2.8×10^{7}	3.3×10^{6}	6.6×10^{5}	4.1×10^{5}	4.2×10^{4}	3.8×10^{3}	+
control	Nacl 0.35	〃	4.2×10^{8}	4.2×10^{8}	3.1×10^{8}	2.8×10^{7}	3.3×10^{6}	6.6×10^{5}	4.1×10^{5}	4.2×10^{4}	3.8×10^{4}	+

Table 4 Effect of various nitrofuran conpounds on the death rate of *Escherichia coli*

Preservative	Concentration of Preservative%	Time elapsed 0 hour	2 hours	6 hours	1 day	3 days	5 days	10 days	15 days	20 days	33 days
5-Nitro-2-furfural semicarbazone	0.01	4.0×10^{8}	3.8×10^{7}	2.8×10^{7}	3.2×10^{5}	5.1×10^{3}	4.8×10^{2}	±	—	—	—
	0.002	〃	4.1×10^{7}	3.3×10^{7}	4.3×10^{5}	5.5×10^{3}	6.6×10^{2}	2.1×10^{2}	—	—	—
	0.001	〃	3.7×10^{8}	3.0×10^{8}	4.1×10^{6}	5.6×10^{5}	7.3×10^{4}	3.3×10^{4}	6.8×10^{3}	1.8×10^{2}	±
	0.0005	〃	3.8×10^{8}	3.8×10^{8}	6.8×10^{7}	6.4×10^{6}	5.3×10^{5}	3.9×10^{5}	4.7×10^{4}	3.2×10^{2}	+
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	0.01	〃	3.7×10^{6}	2.3×10^{6}	3.3×10^{4}	2.6×10^{2}	+	—	—	—	—
	0.002	〃	4.0×10^{6}	2.6×10^{6}	6.6×10^{4}	1.2×10^{2}	1.4×10^{2}	—	—	—	—
	0.001	〃	4.8×10^{7}	3.0×10^{7}	3.2×10^{6}	3.1×10^{5}	4.1×10^{4}	3.7×10^{3}	3.2×10^{3}	—	—
	0.0005	〃	3.6×10^{8}	3.6×10^{8}	4.8×10^{7}	6.2×10^{6}	4.8×10^{4}	4.1×10^{5}	4.3×10^{4}	—	—
5-Nitro-2-furfurylidineaminoguanidine HCl	0.01	〃	3.7×10^{7}	2.6×10^{7}	2.8×10^{5}	5.3×10^{5}	6.3×10^{2}	+	—	—	—
	0.002	〃	1.1×10^{6}	3.2×10^{7}	4.2×10^{5}	5.8×10^{5}	1.1×10^{3}	3.1×10^{2}		—	—
	0.001	〃	3.3×10^{8}	2.8×10^{8}	4.3×10^{6}	5.8×10^{5}	4.5×10^{5}	1.6×10^{4}	8.1×10	3.8×10^{2}	±
Bis-5-nitrofurfurylidine acetoneguanyl hydrazone	0.01	〃	3.0×10	2.3×10	3.3×10^{7}	6.2×10^{6}	5.3×10^{5}	[illegible]	[illegible]	[illegible]	±
	0.002	〃	3.8×10^{6}	3.4×10^{6}	4.0×10^{4}	1.3×10^{3}	4.1×10^{2}			—	±
	0.001	〃	5.1×10^{7}	4.3×10^{7}	3.4×10^{6}	3.0×10^{5}	4.3×10^{5}	1.2×10^{2}	1.5×10		
	0.0005		3.6×10^{8}	3.5×10^{8}	5.5×10^{7}	6.6×10^{6}	4.9×10^{5}	4.3×10	4.7×10^{4}	1.6×10^{2}	—
P hydroxy butylbenzoate	0.01		3.0×10^{6}	2.0×10^{6}	2.3×10^{4}	1.1×10^{2}					
	0.002	〃	4.2×10^{7}	2.8×10^{7}	4.7×10^{6}	7.8×10^{5}	2.3×10^{5}	1.1×10^{5}	4.2×10^{4}	2.8×10^{3}	+
	0.001	〃	4.0×10^{8}	3.8×10^{8}	6.8×10^{7}	6.5×10^{6}	5.2×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+
Salicylic acid	0.01	〃	3.4×10^{6}	2.6×10^{6}	3.2×10^{4}	2.0×10^{2}	+	—	—	—	—
	0.002	〃	3.5×10^{8}	3.2×10^{8}	5.7×10^{7}	6.5×10^{6}	5.1×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+
	0.001	〃	4.0×10^{8}	3.8×10^{8}	6.8×10^{7}	6.6×10^{6}	5.2×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+
Boric acid	0.02	〃	4.0×10^{8}	4.0×10^{8}	6.5×10^{7}	6.3×10^{6}	5.2×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+
	0.01	〃	4.0×10^{8}	4.0×10^{8}	6.8×10^{7}	6.6×10^{6}	5.2×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+
control Nacl	0.85	〃	$40.\times10^{8}$	$40.\times1.^{8}$	6.8×10^{7}	6.6×10^{6}	5.2×10^{5}	4.3×10^{5}	4.7×10^{4}	3.6×10^{3}	+

Table 5 (B) Effect of various nitrofuran compounds on the death rate of *Pseudomonas fluorescens* (sensitive strain)

Preservative	Concentration of preservative%	Time elapsed 0 hour	2 hours	6 hours	1 day	3 days	5 days	10 days	15 days	20 days	33 days	40 days
5-Nitro-2-furfural semicarbazone	0.01	5.1×10^{8}	3.0×10^{8}	6.7×10^{5}	1.5×10^{6}	4.3×10^{4}	3.1×10^{4}	7.6×10^{3}	1.8×10^{2}	1.5×15^{2}	—	—
	0.002	〃	3.3×10^{8}	1.9×10^{8}	3.2×10^{6}	5.1×10^{4}	3.9×10^{4}	2.1×10^{4}	2.6×10^{2}	1.8×10^{2}	—	—
	0.001	〃	3.9×10^{8}	2.9×10^{8}	3.8×10^{7}	7.8×10^{6}	1.8×10^{6}	2.3×10^{5}	1.8×10^{4}	1.1×10^{3}	1.1×10^{2}	+
	0.0005	〃	4.9×10^{8}	4.8×10^{8}	8.6×10^{7}	1.4×10^{7}	2.5×10^{6}	3.7×10^{5}	2.6×10^{4}	2.7×10^{3}	1.6×10^{2}	+
5-Nitro-2-furfuryl acryl amide	0.01	〃	2.4×10^{7}	2.6×10^{6}	8.6×10^{5}	2.6×10^{4}	2.1×10^{4}	5.6×10^{3}	1.6×10^{2}	±	—	—
	0.002	〃	3.5×10^{7}	2.8×10^{6}	1.1×10^{6}	2.8×10^{4}	2.6×10^{4}	1.4×10^{4}	2.1×10^{2}	+	—	—
	0.001	〃	3.7×10^{8}	2.2×10^{8}	1.8×10^{7}	1.3×10^{6}	7.7×10^{5}	1.2×10^{5}	1.1×10^{4}	1.8×10^{3}	+	—
	0.0005	〃	4.8×10^{8}	4.6×10^{5}	6.6×10^{7}	1.6×10^{7}	2.3×10^{6}	3.2×10^{5}	1.8×10^{4}	2.6×10^{3}	1.6×10^{2}	+
5-Nitro-2-furfurylidine aminoguanidine HCl	0.01	〃	[illegible]	6.2×10^{7}	1.3×10^{6}	4.6×10^{4}	3.6×10^{4}	8.5×10^{3}	$6.2\times10^{[illegible]}$	$2.8\times10^{[illegible]}$	±	—
	0.002	〃	3.1×10^{5}	1.6×10^{8}	3.1×10^{6}	6.3×10^{4}	5.1×10^{4}	3.6×10^{4}	7.1×10^{4}	3.3×10^{2}	+	+
	0.001	〃	4.8×10^{5}	2.8×10^{8}	3.6×10^{7}	8.1×10^{6}	2.1×10^{6}	2.8×10^{5}	2.1×10^{4}	1.8×10^{3}	1.5×10	+
Bis-5-nitrofurfurylidine acetoneguanyl hydrazone	0.0005	〃	5.0×10^{8}	2.8×10^{8}	1.9×10^{8}	1.6×10^{7}	2.8×10^{6}	7.8×10^{5}	2.3×10^{4}	2.8×10^{3}	1.8×10^{2}	+
	0.002	〃	4.1×10^{6}	3.1×10^{6}	1.6×10^{6}	3.4×10^{4}	2.8×10^{4}	1.8×10^{4}	2.8×10^{3}	1.2×10^{2}	+	-
	0.001	〃	3.6×10^{7}	2.7×10^{7}	1.2×10^{7}	1.8×10^{6}	8.3×10	3.6×10^{5}	1.5×10^{4}	$2.3\times1.^{3}$	1.3×10^{2}	+
	0.0005	〃	4.8×10^{8}	4.6×10^{8}	6.8×10^{7}	1.6×10^{7}	2.4×10^{6}	3.8×10^{5}	2.3×10^{4}	$2.7\times10^{[illegible]}$	1.6×10^{2}	+
P Hydroxy butylbenzoate	0.01	〃	2.1×10	$1.[illegible]\times10$	[illegible]	—			—	—	—	
	0.002	〃	3.5×10^{8}	2.8×10^{5}	1.8×10^{7}	4.4×10^{4}	2.6×10^{5}	3.8×10^{4}	2.8×10^{3}	5.1×10^{2}	+	+
	0.001	〃	5.0×10^{8}	4.8×10^{8}	2.3×10^{8}	1.6×10^{6}	2.8×10^{5}	3.8×10^{5}	2.6×10^{4}	2.8×10^{3}	1.6×10^{3}	+
salicylic acid	0.01	〃	2.4×10^{6}	4.3×10^{5}	1.3×10^{4}	1.2×10^{2}	±	—	—	—	—	—
	0.002	〃	3.8×10^{8}	3.2×10^{8}	3.6×10^{7}	5.8×10^{6}	6.6×10^{5}	4.0×10^{4}	3.8×10^{4}	6.8×10^{3}	+	+
	0.001	〃	5.1×10^{8}	4.8×10^{8}	2.3×10^{8}	1.6×10^{7}	2.8×10^{6}	3.8×10^{5}	2.7×10^{4}	2.8×10^{3}	1.6×10^{3}	+
Boric acid	0.02	〃	4.8×10^{8}	4.8×10^{8}	2.1×10^{8}	1.5×10^{7}	2.8×10^{6}	3.8×10^{5}	2.6×10^{4}	2.8×10^{3}	1.4×10^{3}	+
	0.01	〃	5.0×10^{8}	4.9×10^{8}	2.3×10^{8}	1.5×10^{7}	2.8×10^{6}	3.8×10^{5}	2.7×13^{4}	2.8×10^{3}	1.6×10^{3}	+
control Nacl	0.85	〃	5.1×10^{8}	4.9×10^{8}	2.3×10^{8}	1.6×10^{7}	2.8×10^{6}	3.8×10^{5}	2.7×10^{4}	2.8×10^{3}	1.6×10^{3}	+

の細菌に対して供試防腐剤の同じ濃度に於ての殺菌力はニトロフラン類に属する4種のものについては，ZF及び PF が F 及び GF に比して稍々優るものがある大体に於て同様な成績を示し，またサルチル酸とパラオキシ安息香酸ブチルエステルとは亦互に殆ど同等の殺菌力を示している。よつて比較の便宜上ニトロフラン類については F をとり，またサルチル酸とパラオキシ安息香酸ブチルエステルとについては前者を撰び，この両者の 0.01, 0.002 及び 0.001% の濃度並に F については更に 0.0005% を加え，これらの濃度に於ての両防腐剤の *Bacillis subtilus*, *Escherichia coli* 及び *Pseudomonas fluorescens* に対しての殺菌力（菌類の時間的減力）を比較図示すると第1図の如くである。これら並に第2～5表に示された成績により次の如く考察し得る。

（1） **濃度低下と殺菌力減少との関係**　供試防腐剤の殺菌力は濃度の低下と共に減少し且つその濃度低下による殺菌力の減少度は濃度により変化し又その変化の様子はニトロフラン類とサルチル酸或はパラオキシ安息香酸ブチルエステルとにより著しく異るものがある。

濃度と殺菌力との関係を見るため細菌数 N の減少の時間的割合を u とし，第1図よりを概算しこれと濃度 x との関係を図示すれば第2図の如くである。但し u は間時の経過に伴い減少するものであるから，第2図に於ては $N=10^7$ 及び 10^6 に於ての u をとりこれと濃度との関係を示す（0.01～0.002% の間では実験値が無い推定曲線を描いた。）.

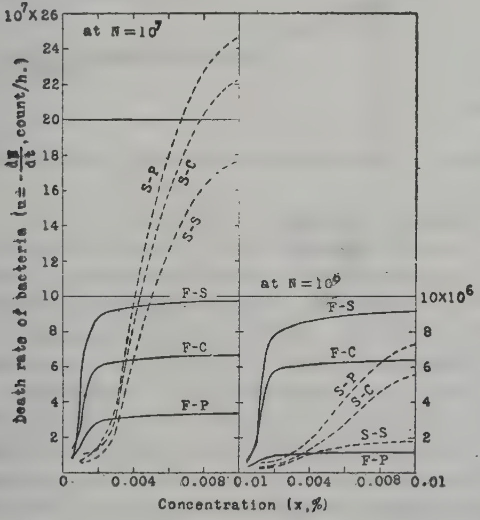


Fig 2. Relation of death rate of bacteria to the concentration of preservatives.

F–S, 5-nitro-2-furfural semicarbazone on *Bac. subtilis*
F–C, 5-nitro-2-furfural semicarbazone on *Es. coli*
F–P, 5-nitro-2-furfural semicarbazone on *Ps. fluorescens*
S–S, salicylic acid on *Bac. subtilis*
S–C, salicylic acid on *Es. coli*
S–P, salicylic acid on *Ps. fluorescens*

この図によれば F の殺菌力はその濃度 0.01～0.002%の間に於ては殆ど変化なく，0.002%以下に於ては殺菌力は顕著に低下するもののようである。これに反してサルチル酸に於ては濃度 0.01% と 0.002% との間に於て殺菌力の低下率の大なるものがあり，0.002～0.001%の間に於てはその低下率は小である。

（2） **細菌の種類による殺菌力の差異**　F, ZF 及びサルチル酸につき，それぞれの 0.01 及び 0.02 の濃度に於ての *Bacillus subtilis*, *Escherchia coli* 及び *Pseudomonas fluorescens* に対する殺菌力を比較すれば第3図の如くである。又第2図によつても細菌の種類の相異による殺菌力の差異を比較することができる。これらによつて見ると F の殺菌力は *Bacillus subtilis* に対して最も強く，*Escherichia coli* に対してもこれについで充分なる殺菌性をなし，濃度 0.02～0.002%に於てはこれら両種の細菌に対して顕著な殺菌作用をもつ。0.002% 以下に於ては濃度低下による殺菌力の減少が著るしく，0.001% は *Bacillus subtilis* に対しての最低有効濃度と見るべきである。*Pseudomonas fluorescens* に対してはなFは殺菌力弱く，その 0.02～0.01% という濃度に於ても防腐剤としての殺菌力を期待し得ない。サルチル酸はその濃度に於ては *Escherichia coli* 及び *Pseudomonas fluorescens* に対しては顕著なる殺菌力をもち，*Escheri coli* に対しては F に優る成績を示す。併し濃度の低下による殺菌力の減退著るしく，0.002%に於ては殺菌力は殆どなくなる。*Bacillus subtilis* に対しては 0.01% 濃度に於てはその初期殺菌力は顕著なものがあるが時間経過による殺菌力の減退が著るしく，従つてこの濃度に於てもサルチル酸は *Bacillus subtilis* に対しては防腐剤としての殺菌性を期待し得ない。

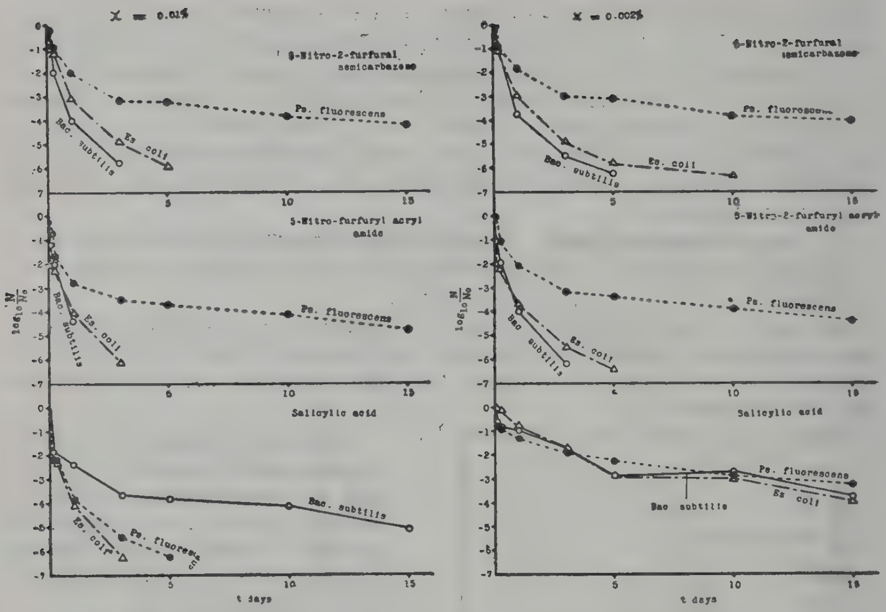


Fig 3. Effect of various preservatives on the decrease rate of bacteria.

（3） **ニトロフラン類の適正使用について**　ニトロフラン類は濃度 0.002% 以上に於ては濃度による殺菌力の変化が極めて小さく，この濃度範囲内に於ては濃度の変化に係らず *Bacillus subtilis* 及び *Escherichia coli* に対して有効な防腐剤として作用することを特徴とするものであるが，濃度低下による殺菌力の減退は 0.002% 以下に於ては顕著であり，0.001% は *Bacillus subtilis* に対しての最低有効濃度とみるべく，しかもこの濃度に於ては濃度低下による殺菌力の減少度は著るしいものがあるから，この種の防腐剤を実用するに当つてはこのことを特に注意する必要がある。*Escherichia* に対しての最低有効濃度としては *Bacillus subtilis* に対するものより稍々高きものをとるべきであろう。又ニトロフラン類に食品腐敗の有力な一因をなす *Pseudomonas fluorescens* に対しては何れの濃度に於てもその殺菌力が甚だ弱く防腐剤としての殺菌力を持たないことも亦この種の防腐剤を使用するに当つて注意を要する所である。本研究について有益な御助言を与えられた源生所長に感謝の意を表わす。猶図表の作製出の他要項に就いて助力された山田金次郎技官に深謝す。

文　献

1) Dodd, M.C. and Stillman, W.B. *J. Pharm. & Exper Therap.*, **82** (1944).
2) 藤野・中田・西野・南部：大阪医学雑誌，**4** (1950).
3) 照井・芝：生産と技術，**2**，6 (1950).
4) 照井・芝：生産と技術，**3**，1 (1950).
5) 杞磯・柳沢：千葉大学腐敗研究所報告，**3** (1950).
6) 鉄本・山田：日水学誌，**15**，2 (1949).
7) 鉄本・山田：日水学誌，**15**，11 (1950).

防腐剤の混用による細菌の生育抑制効果について

興津知明*・山田金次郎
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻 第十一号 別刷
昭和三十年三月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 11, March 1955

防腐剤の混用による細菌の生育抑制効果について

興津知明*・山田金次郎
(東海区水産研究所)

Effect of Mixed Preservatives on the Retardation of Bacterial Growth

Tomoaki OKITSU and Kinjiro YAMADA

It is a well accepted fact that the effect of a certain preservative can be attributed to its specific action against spoilage bacteria. And many efforts have been paid for finding out non-toxic compounds capable of inhibiting the growth of microorganisms responsible for food decomposition. However, it may be also important to fortify the action of known preservatives by improving the method of application. The purpose of the present study is to ascertain whether or not the mixing of two prerervatives can develop more effective inhibition than a single application of each preservative used for mixing.

In the present test, formula of inhibition coefficient is defined as follows:

$$H = 1 - \frac{T_c}{T}$$

where H = coefficient of growth inhibition.

T_c = time required for bacteria to reach a definite growth showing 0.1 of the turbidity of a cultural medium (viable counts, 4×10^7/c.c., see Fig. 1).

T = time required for bacteria to reach the same turbidity of the medium, in which the test preservative is added.

Examining the inhibiting effect of some preservatives (Table 1) on the growth of bacteria, it has been ascertained that there are two types of growth-inhibition. An obvious example of type I is sodium nitrite, though most of other preservatives tested were found to belong to this type as well. The only exceptions are two sulphonamides, which indicate type II of the growth-inhibition (Fig. 2). To clarify the quantitative ralationship existing between the growth-inhibition and concentration of preservatives, the concentration-inhibition curves have been sought from the growth curves of bacteria in the presence of preservatives (Fig. 3).

The result reavled that there is a tendency to increase in effect of inhibition against bacterial growth by a proper combination of two preservatives (Fig. 5).

緒　　言

近時防腐剤の腐敗細菌に対する作用機構が明かにされるに及び，各防腐剤が特異的に腐敗細菌に働くことが判つて来た**。従来食品に対する防腐剤の使用は，なかには防腐剤を混用使用する場合もあるが，大部分は単一防腐剤の使用に限られていた。ごく少数の防腐剤混用の例として，イクラの防腐に対するウロトロピン(Hexamethylenetetramine) と硼酸の使用がある。この使用は多分に経験的なものであるが，ウロトロピンの抗菌作用は解離に基くホルムアルデヒドに帰せられる。又ウロトロピンの解離が pH により変化し，pH 値が低い程解離が大きいこと以外に，このものと硼酸との菌に対する作用機構の相異による抗菌効果の加乗作用も考えられる。この例から判るように，作用機点を異にし防腐剤の組合せにより，単一の場合より，より以上の防腐効果を挙げ得る防腐剤混用の可能性が考えられよう。また防腐剤の混用に於て期待される効果は，たゞに作用機構の相異に基く抗菌効果の加乗作用ばかりではなく，1) 作用機点を異にした防腐剤を混用

1955 年 9 月 19 日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第 197 号 * 現埼玉県衛生研究所勤務

** MRACK, E.M. & STEWART, G.F. : *Advances in Food Research*, 1, Academic Press, New York (1948), 373～391 参照

すれば菌の防腐剤に対する耐性獲得を阻止することが出来ようし；2)また菌に対して選択性を異にする防腐剤を混用すれば，ニトロフラゾーンなどに見られる如き，抵抗性のある菌種の繁殖も抑制されよう。3)更に人体に対し薬害作用を異にする防腐剤を混用すれば，各防腐剤は低濃度で単用の場合と同じ防腐効果を示ししたがつて薬害作用もまた低減することが期待出来る。

この様に防腐剤の混用は防腐効果の面ばかりでなく他の面に於ても種々検討を要する問題を含むものであるが，食品保蔵の見地よりして重要なことは，腐敗剤混用によりどの程度単用の場合と比べ防腐効果が上るかの点にある。この様な考えから，防腐剤の混用による腐敗細菌の生育抑制効果を知る目的をもつて，まず細菌に対する防腐剤の阻害度を定義し，この阻害度から単独防腐剤の静菌効果を明かにし，次に混用した場合の効果をこれと比較し若干の結果を得たのでこゝに報告する。

実験及び実験結果

装置及び方法

供試菌は *Escherichia coli communis* を用い，培養は普通ブイヨン(肉エキス10g，ペプトン 10g，食塩5g を水1 *l* に溶かし，pH 7.0 に修正）を使用した。

防腐剤は直接ブイヨンに溶かして所要モル濃度となし，光学的に一定な試験管に 10 cc 宛分注し，100° C 20 分蒸気殺菌を行った。之に普通ブイヨンで3乃至4日継代培養した菌を一白金耳加え，37°C(±0.5°C)の恒温水槽で振とう培養（1分間 144 往復，振巾 4 cm）し，菌の生育を光電比濁計*を用いて追跡した。

光電比濁計による濁度（吸光度）の測定に於て，懸濁物質による光の消滅は粒子の全表面積に比例すると考えられ，入射光量を I_0，透過光量を I，懸濁質粒子の半径を r，懸濁質の密度を ρ，懸濁質濃度を c，懸濁質層の厚さを d とすると

$$I=I_0 e^{\frac{-3kcd}{r\rho}}$$

なる式が成り立つ。k は恒数である。細菌培養液に於ける場合，懸濁質である細菌の濃度は均一であり，その大きさはほゞ一定であるから

$$I=I_0 e^{-Kcd}.$$

となる。試験管の厚さ径を一定にして測定すれば，

$$\log\frac{I_0}{I}=K'C \ (K' \text{ は比例定数}) \quad \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots (1)$$

となつて，吸光度は総菌数と比例する。

普通の若い菌の培養では総菌数と生菌数は近似的に比例すると考えられるので，濁度と生菌数との関係を調べ第1図の如き結果を得た。

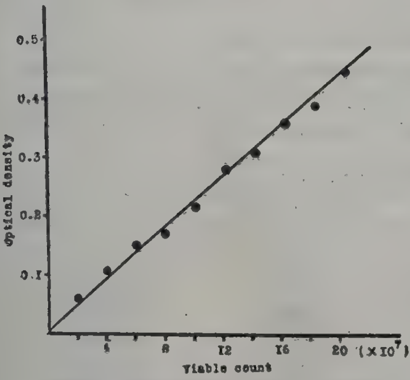


Fig 1. The relation between optical density and viable count.

この結果から，我々の実験条件下では1式が生菌数の場合に於ても成立することが判る。

防腐剤を加えた場合の菌の生育阻害度は次の如く定義した。防腐剤を加えない培地に於ける菌の生育が濁度 0.1 に達する時間を Tc，防腐剤を加えた培地に於ける菌の生育が同じ濁度に達する時間を T とすれば，阻害度 H は

$$H=1-\frac{T_c}{T}$$

として定義される。

我々の実験条件下では，第I図に示される如く，濁度 0.1 は大体 4×10^7/cc の生菌数であり，之は菌の生育に於て対数期から定常期に移るやゝ前期に当り，且つ鮮魚の初期腐敗に於ける 1g 当りの生菌数に近い。

防腐剤単用に於ける阻害度

使用した防腐剤は 5-Nitro-2-furfurylacrylic amide

* 山田：日水誌，17，161 (1952) 参照

(NFA), 5-Nitro-2-furfural semicarbazone (NFS), 2-Methyl-1, 4-naphthoquinone (VK_3), *p*-Hydroxy butylbezoate (Pobb), 3-Acetyl-6-methyl-2H-pyran-2,4 (3H)-dione (DHA), そのナトリウム塩 (DHA−S), Sulphathiazole (Sz), Sulphanilamide (Sm), サルチル酸 (SA), 安息香酸(BA), 硼酸 (BoA) 及び亜硝酸ソーダ (SN) の 12 種である。之等防腐剤を加えた培地に於ける大腸菌の生育阻害様式を調べ, 12 種の防腐剤には 2 つの型があることが判つた。1 つは Sulphathiazole 及び Sulphanilamide の示す阻害型であり, 他の型はその他の防腐剤が示す阻害型である。第 2 図は 2 つの型の代表的な防腐剤の例である。我々は前者をⅡ型, 後者をⅠ型と呼ぶこととする。

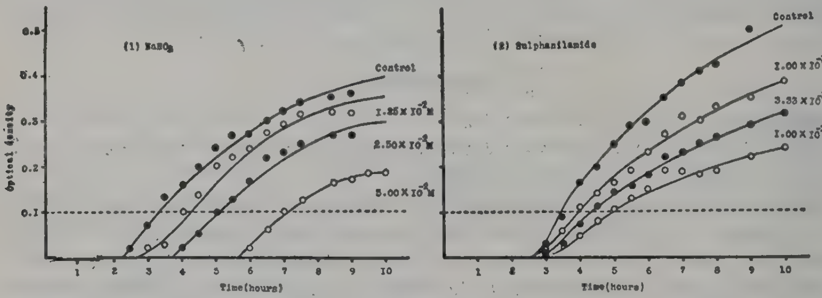


Fig. 2. Effect of sodium nitrite and sulphanilamide on the growth of *E. coli*.

次に各防腐剤の一定濃度に於ける阻害度から各防腐剤の濃度—阻害度曲線を求め,第3図の如き結果を得た。

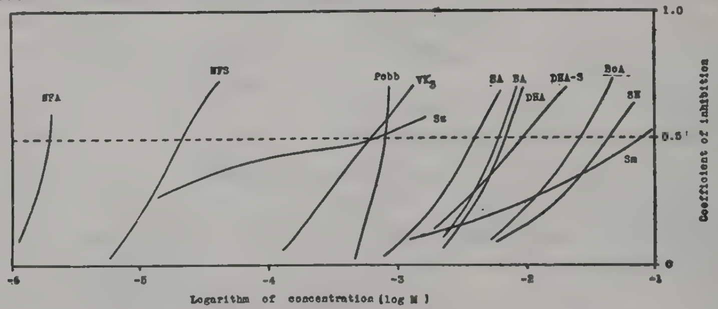


Fig 3. Growth-inhibition of some preservatives on *E. coli*

この図からニトロフラン系防腐剤が低濃度で最も強く菌の生育を抑制し, Sulphanilamide 及び亜硝酸ソーダの静菌力は被検防腐剤中最も小さいことが判る。なおこの濃度—阻害度曲線に於て注意を要することは Sulphonamide 剤に属する Sulphathiazole と Sulphanilamide の曲線が他の防腐剤と異つて大きく傾斜し

Table. 1. The concentration of various preservatives which shows 50% retardation of bacterial growth.

Preservative	Abbreviation	Concentration(M)
5-Nitro-2-furfurylacrylic amide	NFA	2.0×10^{-6}
5-Nitro-2-furfural semicarbazone	NFS	2.2×10^{-5}
2-Methyl-1, 4-naphthoquinone	VK_3	6.3×10^{-4}
Sulphathiazole	Sz	6.0×10^{-4}
p-Hydroxy butylbenzoate	Pobb	8.3×10^{-4}
Salicylic acid	SA	3.0×10^{-3}
Benzoic acid	BA	6.2×10^{-3}
3-Acetyl-6-methyl-2H-pyran-2, 3 (3H)-dione	DHA	6.6×10^{-3}
Sodium salt of 3-acetyl-6-methyl-2H-pyran-2,3(3H)-dione	DHA-S	8.9×10^{-3}
Boric acid	BoA	2.5×10^{-2}
Sodium nitrite	SN	4.5×10^{-2}
Sulphanilamide	Sm	8.0×10^{-2}

ていることである。第1表は濃度—阻害度曲線から各防腐剤の 50% 阻害度に於ける濃度を求めたものであり，この値から防腐剤のおよその静菌力の強弱を比較することが出来よう。

防腐剤混用に於ける阻害度

多数考えられる組合せのうち，十数種の組合せについて防腐剤混用の場合の阻害度を調べた。

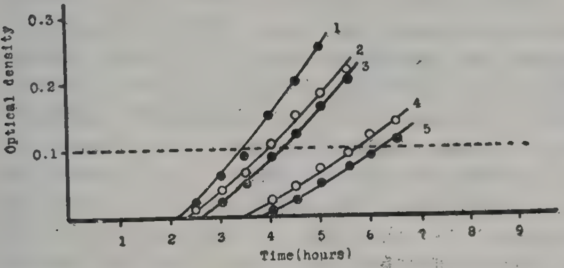


Fig. 4. Effect of Pobb and DHA on the growth of *E. coli*. 1, control ; 2, 4.8×10^{-4}M Pobb ; 3, 4.8×10^{-4} M Pobb + 4.8×10^{-4} M DHA ; 4, 6.4×10^{-4} M Pobb ; 5, 6.4×10^{-4} M Pobb + 6.4×10^{-4} M DHA.

防腐剤濃度は混用2種のうち，低濃度で生育阻害を示す防腐剤の濃度を基準とし，之に同一濃度に他の防腐剤を溶かす方法を用いた。結果の1例を挙げれば第4図の如くである。

第4図に於て p-Hydroxy butylbenzoate 4.8×10^{-4} M 及び 6.4×10^{-4} M なる濃度は第3図から判る如く，大腸菌の生育を抑制する濃度である。これに対し 3-Acetyl-6-methyl-2H-pyran-2,4(3H)-dione の同濃度は何等生育を抑制しない濃度である。ところでこの2つの防腐剤を混用すると，菌の生育曲線は p-Hydroxy butylbenzoate のみを加えた曲線よりずれ，多少ながら菌の生育が抑制されることが判る。

この様にして多くの防腐剤の混用についてその生育阻害曲線を調べ，防腐剤単用の場合と同様に混用した場合の阻害度を求め，それから濃度—阻害度曲線を画き，防腐剤単用の場合の濃度—阻害度曲線と混用の場合の曲線とを比較した結果は第5図の如くである。第5図に於ては基準防腐剤として p-Hydroxy butylbenzoate, 2-Methyl-1,4-naphthoquinone, 5-Nitro-2-furfural semicarbazone 及び 5-Nitro-2-furfurylacrylic amide をとり，之に幾つかの防腐剤を同濃度に加えたものである。なお図に於ける濃度は基準防腐剤の濃度であり，したがつて混用した2つの防腐剤の全濃度はその2倍となる。この結果から判ることは防腐剤の混用により，その阻害度は単用の場合よりも増加する傾向が認められることである。

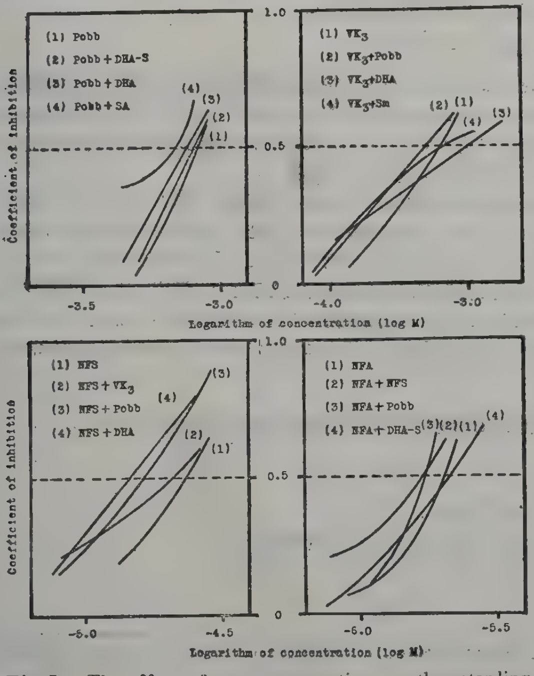


Fig. 5. The effect of some preservatives on the retarding action of a given preservative.

考　察

田宮・柳田・鈴木は Pulfurich の比濁計を用い多くの抗菌性物質の菌生育曲線に及ぼす影響を調べ，抗菌性物質の阻害様式に誘導期を延長するⅠ型，対数期を抑制するⅡ型及び両型の混合型であるⅢ型と溶菌型であるⅣ型の4つの型が存在することを明かにし，Ⅰ型に於ては薬剤の阻害度 HA を

$$HA=1-\frac{J}{JG}$$

で表わし，II型に於てはその阻害度Ho を

$$Ho=1-\frac{KG}{K}$$

で表わしている（但し J 及び JG は　それぞれ対照培養及び或濃度の薬剤が添加された場合の誘導期の時間であり K 及び KG はそれぞれ対照培養及び或濃度の薬剤が添加された場合の対数期の発育速度である）。

すでに述べた如く，濁度（吸光度）は総菌数乃至は生菌数に比例するものであるから，濁度から菌の生育曲線の各相を考察するためには，培養時間に対し濁度を対数目盛にとる必要がある。MOORE 及び BOYLEN[2] は光電光度計を用い大腸菌の生育曲線に及ぼす 5-Bromo-uracil その他の薬剤の影響を調べ，之等薬剤の対数期阻害に3つの型があることを明かにし，その際菌の生育度を濁度の対数として表している。しかしこの様にして濁度の対数をとつても，濁度から生育曲線の各相を追うことは難かしい。と云うのは菌の生育が濁りとして比濁計により認められるときには接種時の菌量に比べ相当の菌量に達しているからである。我々の使用した光電光度計に於ける濁度0.1は菌数にして 4×10^7/cc 相当し（第1図），MOORE 及び BOYLEN が使用した Coleman の光度計に於ては同じ濁度ではゞ倍数の菌量になつている。したがつて我々は菌の生育曲線の各相を追うことなく，防腐剤を加えた場合の生育阻害曲線を光電光度計によつて調べ，12種の防腐剤中その阻害様式には2つの型があることを明かにした（第2図）。その1つは亜硝酸ソーダによつて代表される型であり，防腐剤濃度が大になるに従つて見掛けの誘導期* が延長されるものであり（I型），他の1つは Sulphanilamide によつて代表されるものであり，防腐剤濃度が大になると見掛けの誘導期には変化なく，生育曲線の傾斜が緩かになつて来るものである（II型）。I型には Sulphanilamide 及び Sulphathiazole を除いたすべての防腐剤が属し，II型には Sulphanilamide 及び Sulphathiazole が属した。

次に防腐剤を加えない培地に於ける菌の生育が濁度0.1に達する時間を Tc，防腐剤を加えた培地に於ける菌の生育が同じ濁度に達する時間をTとして，防腐剤の阻害度Hを

$$H=1-\frac{Tc}{T}$$

で表わし，種々なる濃度に於ける阻害度から，防腐剤の濃度―阻害曲線を求めた（第3図）。この結果によるとII型に属する防腐剤は他の防腐剤と異り，曲線の傾斜が著るしく緩かである。このことは防腐剤の静菌作用を示す濃度範囲が極めて広いことを意味するものであるが，これがII型に属する防腐剤の特徴であるか否かについては，何分II型防腐剤が少いので更に研究を進める必要がある。

細菌に対する化学療法剤乃至は抗生物質の協同作用に関しては可成りの研究があるが，防腐剤の協同作用に関しては殆ど系統的な研究がない。したがつて我々は防腐剤を種々組合せその濃度―阻害度曲線から混用の場合の静菌効果を考察し，混用の場合，多くはその阻害度が単用の場合より多少増加るす傾向があることを明かにした（第5図）。ある阻害度を示す濃度の防腐剤に何等阻害作用を示さない濃度の他の防腐剤を加えても，ある防腐剤の阻害度が程度の差は別として増大する傾向が認められる原因は詳かでない。これについては更に多くの防腐剤について，または混用の方法を異にした場合について一層の研究を行う必要があろう。

終りに臨み御教示を頂いた鉄本総吾先生並に御校閲を賜つた天野慶之先生に感謝の意を表する。

文　　献

1) 田宮・柳田・鈴木：ペニシリン，1，257 (1947).
2) MOORE, A.M. and BOYLEN, J.B.: *J. Bact.*, 64, 315 (1952).

* 菌の生育を比濁計で追う場合，濁度―時間曲線に於て菌の生育が濁りとして認みられるまでの菌生育の相を云う。

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—I.
加熱の際の煉製品中心部温度の上昇様式について

天野慶之・内山　均・福田正彦・河端俊治・高瀬　明
（東海区水産研究所）　（国立予防衛生研究所）　（国立公衆衛生院）

日本水産学会誌
第二十巻　第九号　別刷
昭和三十年一月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 9. January, 1955

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—I. 加熱の際の煉製品中心部温度の上昇様式について

天野慶之・内山　均・福田正彥・河端俊治・高瀬　明
（東海区水産研究所）　（国立予防衛生研究所）　（国立公衆衛生院）

Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products—I. The Rate of Penetration of Cooking Temperature in Fish-cakes of Commerce

Keishi AMANO, Hitoshi UCHIYAMA, Masahiko FUKUDA,
Toshiharu KAWABATA, and Akira TAKASE

Problem of cooking temperature for fish-cakes (Kamaboko and related products) with reference to preservation and sanitation has proved an important subject for fish-cake industry in this country. Because insufficient cooking tends to cause spoilage of the product and occasionally result intoxication. In spite of the significance of the problem, there have been very few information about heat penetration of fish-cakes. For these reasons, the heat penetration has been measured with representative kinds of fish-cakes at commercial plants in several districts. The instrument used for the measurement is a copper-constantan thermocouple equipped with a mili-voltmeter; varieties of fish-cakes were either steamed, boiled, fried or roasted, during which process the heat penetration was determined.

The results are summarized as follows;

1) In general, high temperature at the core of fish-cake are more often observed in fried or roasted products than in steamed or boiled forms, regardless their sizes, kinds of raw fish meat and sub-materials added.

2) Addition of starch into fish-cake seems to give an effect on the penetration of heat. As mixing of starch in fish paste usually reduces the ascendence of temperature. Perhaps more heat may be necessary to make β-type starch convert into α-type starch or dextrin. For this reason, cooking temperatare for fish-cake containing starch more than 10 per cent of its own weight must be controlled to keep higher than that for the product with no starch. As will be seen from Table I, an average cooking temperature suitable for starched cakes lies near 85°. C, while that for the products without starch about 80°C.

3) In a larger type of fish-cake called "Ooita Kamaboko", the temperature at the core is not so easily increased as that of smaller sized ones. As these products are more frequently used for ceremonial occasions than for home consumption, it should be advised to fish-cake makers to give higher cooking temperature for these large sized commodities so as to prevent outbreak of group intoxication. Among many varieties of the products, "Hampen" is most often processed inadequately from sanitary point of view.

水産煉製品製造時に於ける加熱条件の選定は，原料肉の配合，擂潰操作，調味料添加等と並んで，製造技術上，重要な工程であるが，これに関する研究資料は極めて少い。

業者は，製品の種類，原料肉の性質等に応じて，所謂経験技術で，最適加熱条件を決めている訳であるがそのねらいは，あくまでも製品の形質に重点が置かれている。事実，高温で処理された擂身は，加熱中に膨脹し，その後の冷却工程では収縮して，外観が甚しく変形する。従つて，魚肉蛋白の熱凝固と，澱粉を添加している場合には，その糊化が達成されゝば，それらを官能的に判定することによつて，必要以上の加熱が

1954 年 12 月 27 日受理　東海区水産研究所業績B第 190 号（印刷費負担）

回避され勝ちになるのは当然であろう。

しかし，缶詰の如き貯蔵性食品と違つて，煉製品では，製品中にかなり微生物が残留する訳であるから，その中心部温度の高低により，生存する細菌の種類も変動する筈であつて，比較的熱抵抗の弱い病原性細菌といえども，その中心部温度如何によつては，生残る場合も起り得るであろう。

即ち，煉製品の加熱状態を正確に知ることは，その製造技術と，食品衛生との二点から見て，極めて重要な問題なのであるが，現在までのところ，殆んど見るべき資料がなく，僅かに，木村[1]，清水[2]，金子[3]氏等の記載があるだけである。

一方，煉製品は，食中毒原因食品として，しばしば問題とされることが多い[4]。そういう実情に鑑みて，厚生省は，この衛生的取扱について，副原料，加熱，放冷，包装等に，種々の指導基準を作成し，これに準拠して，製造を行うよう業者に要望している。これが 1953 年6月「魚肉煉製品の製造，取扱等に関する衛生上の指導基準[5]」として公にされたものである。この指導基準の加熱の条項の中には，「澱粉を加えるものについては，その製品の中心部温度は 73°C を最低として努めて高温加熱するよう工夫しなければならない」としている。

筆者等は，まず，煉製品工場で日常行われている加熱方法及び個々の製品別の温度上昇状況につき，その実情調査から，研究に着手し，併せて，指導基準にある中心部温度が 73°C という規定の妥当性について，二三の吟味を行い，一応の結果を得たので玆に報告する。

I. 中心温度測定方法

測定には熱電対を用いた。熱電対は太さ 1mm，長さ 5.5cm の大型注射針型のもので，煉製品の部位による温度差をも測定できるようにし，起電力をミリボルト計で測定後，これを該当温度に換算した。

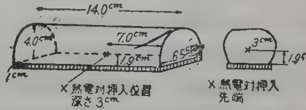
II. 実　測　試　料

実測した試料は，東京，小田原，大阪，及び岡山附近の工場に於て通常行われている，4種の加熱方式（蒸煮，湯煮，油揚，焙焼（あぶり焼）によるものを選んだ。1例を除き全試料は，日常市販品として製造していたものだけであり，温度測定のために，筆者等が特別，業者に作成させたものはない。

III. 実　験　結　果

（1） 東京及び小田原地区の製品

（a） 板付蒸カマボコ（その1）　実験は東京築地のA工場で行つた。加熱装置は，60×68×88 cm（奥行，幅，高さ）の扉がある箱の下部に，ボイラーと直結したパイプから，生蒸気が発生するようになつている。この箱の中に，カマボコを乗せた棚をいれて蒸煮する。実験材料は，キンキ，ヨシキリ鮫，黒皮カジキを主原料とし，馬鈴薯及び小麦澱粉の等量混合澱粉を，約 10% 添加したものであつた。その大さ及び中心部温度測定位置は，第1図に示す如くである。そして，蒸煮箱中の温度も，カマボコを乗せた棚の一端に，熱電対を固定して，同時に測定を行つた。得た結果は第2図に示す。図より明かなように，蒸煮箱中の温度は，加熱開始後，約3分にして略平衡になる。途中，急激に温度が下降しているのは，製品の蒸煮程度を観察するため，扉を開くので外気が影響するからである。製品の中心温度は，30 分にして 80°C に達する。この場合の蒸煮は，市販品の製造が目的でなく，強く加熱した場合，どのような影響が製品に現れるかを見たものである。従つて，蒸煮終了直後の製品は，第3図に示すように，両部上端が異常に膨脹し，これが冷却



Top of thermocouple

板付カマボコの中心温度測定位置

Fig. 1. Locality where thermocouple is inserted for measuring temperature of fish-cake.

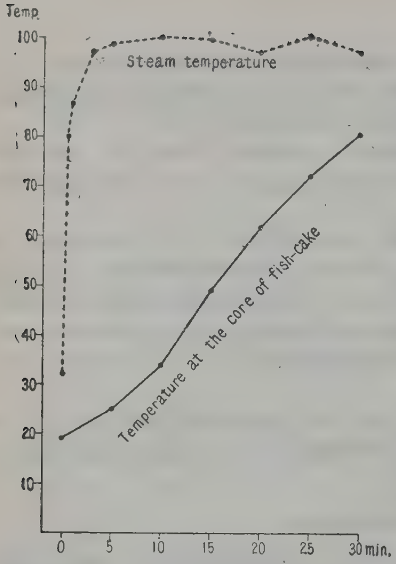


Fig. 2. 板付カマボコの中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of fish-cake (Kamaboko mounted on a wooden plate). This sample contains about 10% starch. Size is 14×6.5×1.0 cm.

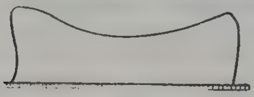


Fig. 3. 過度の加熱による製品のふくれ上り
Deformation of fish-cake by overheating. Both ends show swelling.

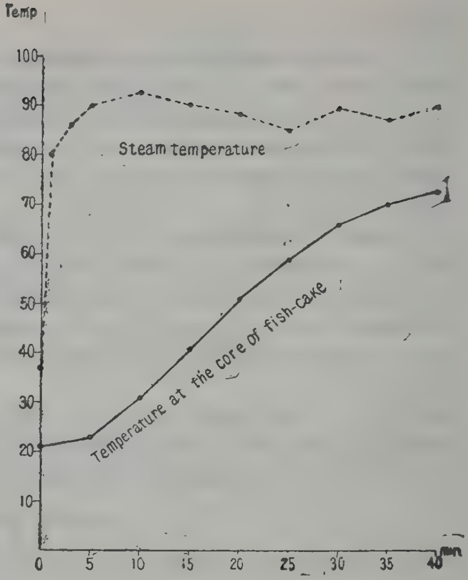


Fig. 4. 板付カマボコの中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of Kamaboko. This sample contains about 10% starch. Size is 14×6.5×4.0 cm.

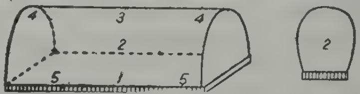


Fig. 5. 板付カマボコの蒸煮終了直後の温度分布

(1)	中心	板との接面	74.2°C
(2)	中心	熱伝導測定点	73.0
(3)	中央	上部表面下 1 cm	75.0
(4)	側面	上部両端表面下 2 cm	81.2
(5)	側面	板との接面	76.1

Temperature diststribution in fish-cake at the end of heating.

Positions at which cooking temperature were measured.	Temperature.
1. Center of the bottom contacting with the wooden plate.	74.2°C
2. Core of sample.	73.0
3. Depth, 1 cm from the suface.	75.0
4. Depth, 2 cm from the upper. and lateral sides.	81.2
5. Edges of the suface contacting with the wooden plate.	76.1

と共に，収縮して表面が滑かにならず，決して良い製品とは言えなかつた。このような膨脹を起すのは，鮫肉を用いた製品に著しい*.

第4図は上述の試料と全く同様のものを，市販品として製造した際の蒸煮温度である。蒸煮箱及び製品中心温度とも，第2図に比較して，かなり低く，蒸煮終了直後の膨脹による変形もない。そして，蒸煮終了直後の製品の部位による温度分布を調べてみると，第5図の如き結果が得られた。板付カマボコがこのような温度分布を示すことは，その後の実験に於ても確かめることができ，上部両端が最も高く，中心部温度を測定した位置が最も低い。このことは，製品の大小を問わず，同様の傾向があるとみて間違いない。

* 鮫肉を用いた場合，他の魚種より特異的に膨脹することは，魚肉鮮度との関連に於て更に追求すべきであろう。

蒸煮の場合の如く，表面に於ての伝熱率が甚だ高い場合には表面は短時間で蒸気温度に近づき蒸煮が完了されるが，中心温度の上昇は著しくおくれ，中心部の温度上昇速度は高さの略々2乗に反比例するものとみてよい。これについて上述の試料と全く同一組成の擂身を，第6図の如く，やや小さく板付した場合の中心温度の上昇について検討してみた。そして蒸煮終了後，更に中心部の放冷中の下降温度も測定してみると，第7図の如き結果が得られた。図より明かな如く第4図の高さ 4.0 cm のものに比較して，著しく中心部温度の上昇が速である。即ち板付カマボコの中心部温度の上昇は，擂身の高さに著しく影響されることが判る。

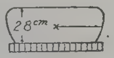


Fig. 6. 小板付カマボコの中心温度測定位置
Locality where thermocouple is inserted for mesuring temperature of fish-cake.

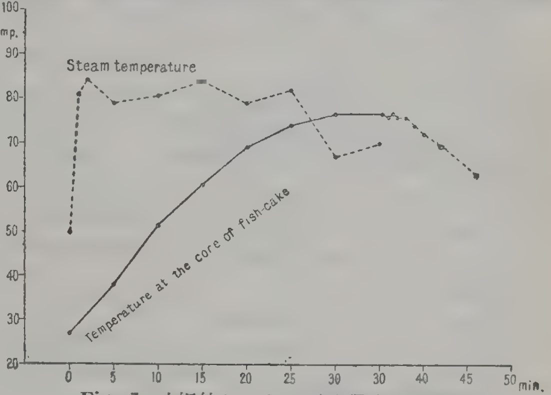


Fig. 7. 小板付カマボコの中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of Kamaboko. This sample contains about 10% starch.

従つて蒸煮の打切りを単に外観の観察だけによつて判定することは危険であり，蒸煮打切の時期は高さを考慮に入れて判定すべきである。事実，後述する如く，大板カマボコでは中心部が低い温度で打切られる傾向があるのである。第5図の実験に於ても最高と最低で約 8°C の差のあることは特筆すべきことと思う。

（b） 板付カマボコ（その II 小田原カマボコ） 小田原カマボコは，実験（a）の板付カマボコで示したような，蒸煮箱の中で加熱することは決して行つていない。必ずセイロ（58 cm 正方形，高さ 11 cm）* に並べて加熱し，途中，セイロを天地して蒸煮しているのである。このような場合の影響を見るために，現地のA，B，C，3 工場の市販品の蒸煮状況を調査した。

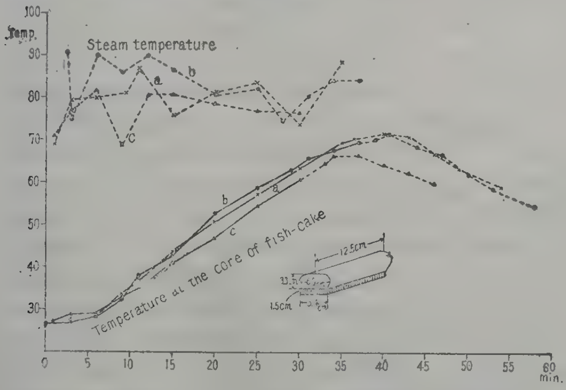


Fig. 8. 小田原カマボコ（小板）の中心温度の上昇様式
(Factory A) The rate of heat penetration at the core of Kamaboko (produced at Odawara district) These samples contain potato starch a little. Size is 12.5×6.0×3.3 cm.

先ずA工場で第8図に示す如き寸法の小板カマボコを，各セイロ別に測定して，第8図に示す如き結果が得られた。試料 a, b, c に対応する蒸煮温度は同じく a, b, c で示すことにした。図中 a 及び b は略同一の中心温度の上昇を示し，加熱時間は各 37 分と 35 分であり製品最高中心温度は 72.5°C である。しかし c は加熱時間 30 分で打切られ，最高中心温度は 67.5°C にしか達していない。言うまでもなく，a, b, c の三試料は，全く同一組成の擂身であり，その大きさも同一である。このように同一工場で，しかも同時に

---

* この寸法は各工場共，略一定している。95 匁の小板カマボコであると，このセイロ一枚に約20枚前後並べて蒸煮する。

造った製品で，その中心温度が 5°C も差のあることは，種々の問題があると思う*。このように，同一製品でありながら，中心部温度がまちまちであるということは，他の工場に於ても見られるのである。第9図は，B工場に於ける小板カマボコの測定結果である。即ち，a は加熱時間 35 分 b，c は 30分，最高中心温度は，それぞれ 73.5°C，67.5°C，68.0°C であり，ここでも最高 a と最低 b とでは 6.0°C もの差が生じていることが明である。

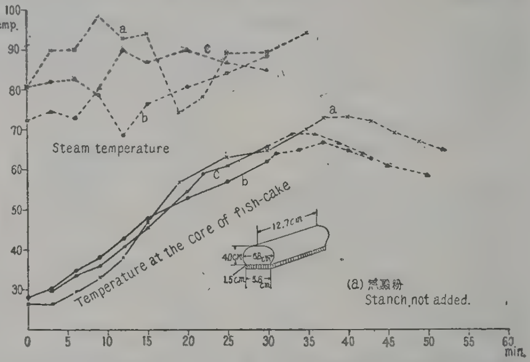


Fig. 9. 小田原カマボコ(小板)の中心温度の上昇様式(B工場)
(Factory B) The rate of heat penetration at the core of Kamaboko (produced at Odawara district)
These samples contain potato starch a little. Size is 12.7×6.8×4.0 cm.

小田原カマボコは，グチを主原料とし，約 10％ の砂糖と 0.5％ 内外の調味料を加えて，製造していることは，どの工場を見ても共通している。そして一般には，無澱粉で製造することを特色とすると言うが，6～8 月の製品は，原料魚肉の季節的原因による足の低下から，これを補うため，約 0.5～1％ の馬鈴薯澱粉を添加している。つまり，厳密な意味では，厚生省の指示する澱粉添加カマボコに違いない。かゝる場合，中心部が，73°C を基準にしてまちまちであるということは，今後，熱管理について再検討を要する点である。

ところで，中板，大板カマボコでは，小板カマボコに較べて，一層，中心部の温度が上昇しにくいと考えられる。それで第 10 図の示す如き大きさの製品について，測定して見た。中板は 300 匁，大板は 450 匁であり，魚肉組成は前述の小板の場合と同様である。たゞ澱粉が，小板の場合よりやゝ多く添加されている。これを同じセイロに並べて蒸煮した結果，第 10 図のような値が得られた。蒸煮温度は，前述の小板の場合に較べて約 10°C 前後高い。即ち，小板カマボコの平均蒸煮温度は 79.6±5.3 であるが，中板，大板の場合は 93.5±2.8 である。中板，大板の場合，このように高温加熱を行っている理由は，その形状が大きく中心部に温度が伝わりにくいことを考慮しているのであつて，小板の場合よりやゝ多く澱粉を添加したということが高温処理を行つた主な理由ではない。そして中心部温度上昇を第 10 図よりたどつて見ると，中板は 40分で蒸煮を打切り，大板は 62 分，その各々の最高中心温度は，蒸煮を打切つて後，放冷中 3～4 分にして到達する。即ち中板，大板とも 65°C であり，かなり低いのである。

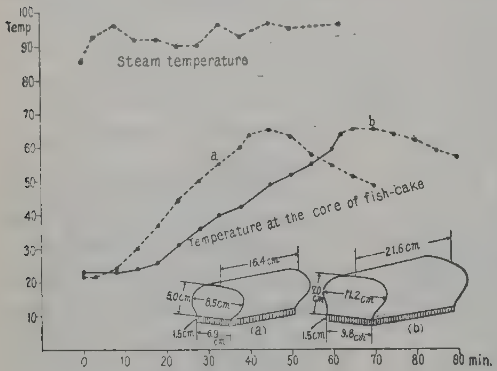


Fig. 10. 小田原カマボコ(大，中板) の中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of Kamaboko (produced at Odawara district). These samples contain potato starch a little. Size of sample (a) called "Chiuita Kamaboko" is 16.4×8.5×5.0 cm. Size of sample (b) called "Ooita Kamaboko" is 21.6×11.2×7.0 cm.

このような事実からも，中板，大板は製造に無理があり，小板に較べて中心温度が低くなり勝ちである。

* 本報告，第 3 の "汚染及び中毒原因細菌の加熱致死条件について" を併せご参照されたい。

煉製品の中毒は，よく折詰に使われて問題を起すことがあるが，この折詰には得てして，中板，大板が用いられる。その中毒原因の一つに，上述の如く，中毒性原因細菌が死滅に至らない温度で，加熱が打切られているということと関連があるとすれば，注意されねばならない。

業者は，中板，大板の，このような中心温度の上昇されにくいことを補うため，摺身を直径 2 cm 程度の穴を数個所にあけた板に，ブリキを巻いたものの上に成形して蒸煮*している。これを蒸煮終了後，普通の板に移しかえているが，製品の大型化に従つて，こうした方法で，中心温度の上昇を補うことは，必ず実施される必要があろう。

（b） 澱粉添加の有無による中心温度上昇に及ぼす影響

澱粉は水分の共存下に於て，加熱により放射状構造を消失[6]して糊化する訳であるが，煉製品に添加されてどの程度中心温度の上昇に影響するかを確かめるため次の如き予備的実験を行つた。

試料の摺身は，黒皮カジキ，ヨシキリ鮫を主原料とし，一方は馬鈴薯澱粉 10 %，他は無澱粉の板付カマボコとして蒸煮した。その結果第 11 図の如き値が得られ，10 % の澱粉の添加によつて中心温度がやゝ遅延する傾向が見られる。これは糊化による熱の消費，部分的に水分が澱粉糊化に用いられてしまう等の影響がその遅延の原因であろう。

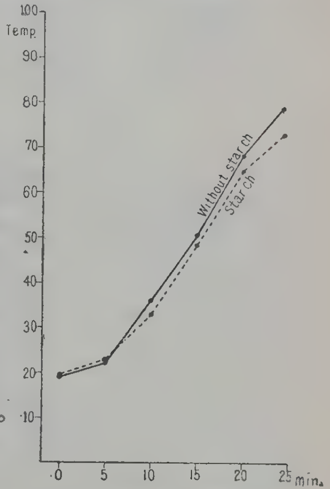


Fig. 11. 澱粉の有無による板付カマボコの中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of Kamaboko with or without 10% potato starch.

（c） 半ペン

湯煮（茹でる）製品の中で半ペンは，重要な製品の一つにあげられる。本実験は東京築地の A，B 二工場で行つた。先ず A 工場の製品原料魚はヨシキリ及びオナガ鮫を用い，山芋はこれに対して約 6 %添加し，更に馬鈴薯澱粉も加えたものである。加熱は厚い板で囲つた約 1.3 m の正方形の湯船の中で，成形した生半ペンの摺身を浮かせながら加熱した。湯船は，ボィラーより導かれたパイプより生蒸気を吹込んで，温度を調節できるようにしている。製品の大さは 10 cm 正方形，これを加熱中，上下反転して加熱温度の平均化を図つている。この中心温度測定位置及び，測定結果を第 12 図に示す。即ち，半ペンは極く短時間の加熱処理を行うことが，他の製品と著しく違つている。本実験に於ける最高中心温度は，71°C であり，70°C 以上に保つ時間は約 1.8 分，60°C 以上の場合でも 7～8 分である。この実験も，一般市販用半ペンを製造している夜間，じつさいの加熱方法に則して行つたものであり，この外にも数回同様の測定を行つたが，略々同じ値が得られた。

ところで，同じような実験を B 工場の半ペンについて行つて見たところ，第 13 図の如き結果が得られた。当製品は，A 工場のものより小さく，8.5 cm 正方形で，澱粉添加量もかなり多く，18% であつた。その加熱時間は 6 分であるが，加熱温度が 81～83°C で，A 工場の半ペンの加熱に比較すると，約 10°C 前後低い。従つて，中心部最高温度も，僅かに 60.5°C にしか達していないのである。

このような不充分な加熱処理が行われる理由の第一は，製造設備，生産能力と，生産量の不均衡をあげられる。小規模すぎる製造設備を駆つて，多くの生産をあげようとするため，甚しく製造に無理が生じているのである。じつさい，上述の B 工場の製造設備は，A 工場の半分程度のものでしかなく，その生産量は略同様であつた。このような加熱処理ではその製品の品質からも，衛生的見地からも，望ましくないことは言うまでもない。事実，本試料中心部より，甚しい生澱粉が検出されたのである。

生産能力と生産量の不均衡から，無理な加熱処理が行われるということは，上述の半ペンの場合だけに止まらない。後述する如く，小田原カマボコに於ても同一工場で，種々の中心温度の製品が製造されるという

---

* この影響について，筆者は検討していないが，近く追試の予定である。

ことにも，この問題が関連していると考える。これに加えて，季節的に，非常に多く製造が行われる場合には，加熱管理が不充分になり勝ちになるのは当然であろう。製造技術上，又衛生的見地より充分注意さるべき問題である。

（d） 油煠製品

油煠製品は，高温処理されるので，一部を除いて比較的問題はない。第 14 図は東京築地の工場で行ったサツマ揚の測定結果である。油煠は大豆油，その加熱温度は 192～196°C であるが，油煠製品の特徴とすることは，油煠終了後著しく中心部温度が上昇することである。即ち第 14 図に示す如く，油煠は 5 分間で打切り，この時の温度が 54°C であるが，油切りしているうちに約 30°C の上昇を示し最高中心温度 83.0°C となつた。油煠製品は，油煠中外観の褐色の度合を見て，その油煠程度を判定しており，中心部の温度が不充分のところで打切つて，放冷中に加熱を完了し，過度の油煠による褐色の変色を防いでいることは興味あることである。

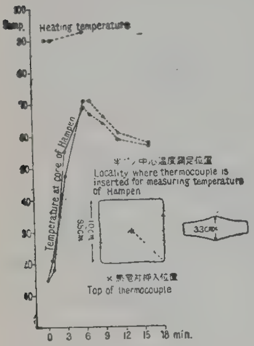


Fig. 12. 半ペンの中心温度の上昇様式（A工場）（澱粉 1 割添加）
(Factory A) The rate of heat penetration at the core of Hampen. This sample contains about 10% potato starch. Size is 10×10×3.3 cm.

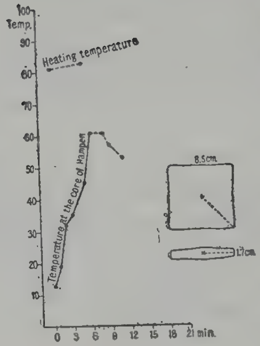


Fig. 13. 半ペンの中心温度の上昇様式（B工場）（澱粉 1.8 割添加）
(Factory B) The rate of heat penetration at the core of Hampen. This sample contains about 18% potato starch. Size is 8.5×8.5××1.7 cm.

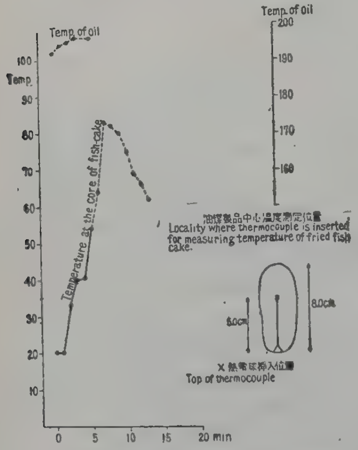


Fig. 14. 油煠製品の中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of fried fish-cake. Size is 8.0 cm long and 2.6 cm diameter.

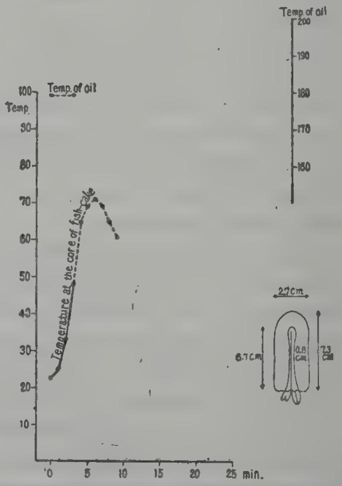


Fig. 15. 油煠製品（エビ巻）の中心温度の上昇様式
The rate of heat penetration at the core of fried fish-cake coating shrimp. Size is 7.7 cm long 2.7 cm diamter.

しかし，同じ油煠製品であつても，中心部に他の魚肉等を巻いてある場合は，比較的中心部の温度が上昇

しにくい傾向がある。第 15 図は，エビに上述のサツマ揚の擂身を巻いたものであるが，油煠時間も短かく最高中心温度も 70.5°C にしか達していない。換言すれば，このような製品は，短時間の油煠によって，まわりの擂身だけを油煠し，むしろ内部に入れたものは，油煠をさけていると見ることができよう。従って中心部に入れるなまものは，予め充分なる衛生的取扱をしておく必要がある。

（E） 魚肉ソーセージ

最近，魚肉を主原料として，所謂魚肉ソーセージ型の煉製品が普及しつつある。

第 16 図の製品は，ケーシングにライハンを用い，澱粉添加の擂身を 150 g 詰めて，湯煮した場合の製品である。加熱は，初めケーシングを染色する目的で，約 10 分染料の入った湯の中で加熱し，以後は一度染

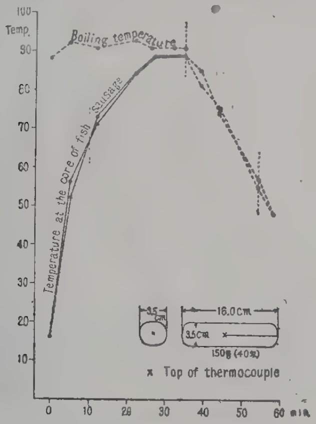


Fig. 16. 魚肉ソーセージの中心温度の上昇様式

The rate of heat penetration at the core of fish sausage. Size is 16.0 cm long and 3.5 cm diameter.

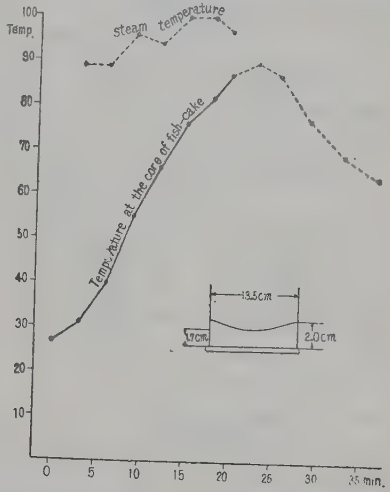


Fig. 17. 小板焼カマボコ（B工場 大阪）中心温度の上昇様式

The rate of heat penetration at the core of Kamaboko (produced at Osaka district). This sample contains wheat starch. Size is 13.5×1.7×2.0 cm.

色液を洗ひ落して，直ちに 90～91°C の温度で湯煮としたものである。加熱してから，32 分で最高中心温度，88.5°C に達し 35 分にして加熱を打切る。60°C 以上の継続時間は，42 分 70°C 以上で 35 分，80°C 以上に於ても 20 分は確実に継続している。本製品は，製造のさい一つ一つの重量を秤り，大さを均一にすることができるので，加熱温度と，加熱時間を一定に考慮さえすれば，中心温度に異同を生ずる恐れはない。その意味から，市販煉製品の中で，かなり衛生的に取り扱い易いものと見ていいであろう*。

（Ⅱ） 阪神及び岡山地区の製品

（a） 板付蒸カマボコ

阪神地区は，全国で最も水産煉製品の消費量が多いといわれている。製造規模もかなり大きいものがあり関東では見られぬような，機械化された工場もある。

1953 年 9 月，当地方に赴き，二三の工場の加熱情況を調査した。第 17 図は小板の焼カマボコの測定結果である。関東と関西のカマボコで，著しい特徴とすることは，使用澱粉が前者は馬鈴薯澱粉，後者は小麦澱粉を，主に使用していることである。第 17 図の製品も小麦澱粉を約 10% 添加したグチを主原料とした製品である。加熱温度は，関東の板付カマボコに較べてかなり高く，平均約 95°C を示している。従って，その中心温度もかなり上昇し 90°C に達している。関西の一般市販の板付カマボコは前述した関東の小田原

* 染色に用いる色素，擂身に配合する材料等には種々の問題があろう。

の小板カマボコより，比較的形が小さい（擂身の板付の高さが低い）のである，が加熱温度も約 10°C 程度高いことを特徴としている。

第 18 図は，大阪地区の工場で測定した結果であるが，平均蒸煮温度は 86～90°C を示し，中心最高温度も 79～83°C に達し，ここでも小田原式の蒸煮温度より高いことが判る。また当地方の蒸煮方式は，セイロを用いず，第1図で述べた如き，扉を有する箱の中で，生蒸気を吹き込んで加熱する方法がとられている。このことは，各工場とも共通しているようであつた。

第 19 図も 同じく蒸煮による製品であり，大阪地区に於ては，円月と言はれて市販されている。加熱平均温度は，90～93°C，中心最高温度は 83°C を示している。

（b） あぶり焼製品

煠製品の加熱方式の中であぶり焼は油煠製品と竝んで，比較的高温処理されている。

第 20 図は岡山市に於ける製品の中心温度* の上昇様式である。当地のカマボコの著しい特徴は，澱粉を多量に用いることである。即ち，小麦澱粉を普通 20～30% 添加し，ある場合には 40% 余りも加えるという。その目的は，単に価格を下げることのみがねらいでなく，多量の澱粉（しかも，小麦澱粉）を用いたものが当地方の嗜好に適しているようであつた。この第20図の製品は，板も薄く，所謂焼抜きの製品である。初め，板の下面より炭火で焼き，反転して上部の擂身を同様に加熱する訳である。加熱時間 19 分，最高中心温度 75°C，中心部が 60°C 以上継続時間 23 分，70°C では 7 分であつた。

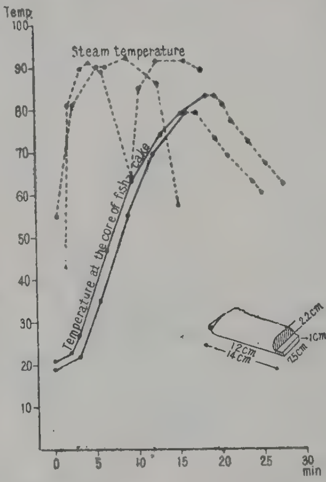


Fig. 18. 小板焼カマボコ（A工場 大阪）中心温度の上昇様式

The rate of heat penetration at the core of Kamaboko (produced at Osaka district) This sample contains wheat starch. Size 12 ×8.5×2.2 cm.

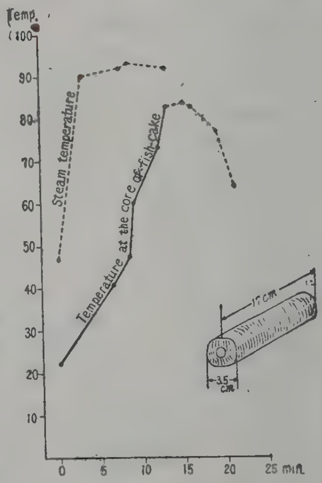


Fig. 19. 円月（A工場 大阪）中心温度の上昇様式

The rate of heat penetration at the core of fish-cake (produced at Osaka district) This sample contains wheat starch. Size is 17 cm long and 3.5 cm diameter.

第 21 図は、大阪地区の最も上質な焼抜カマボコである。測定は加熱終了後，直ちに熱電対を挿入して，各部の温度を測定したものであるが，中心部が 80°C 以上に達していることは確実である。

あぶり焼は，炭火で直接に焼く場合と，加熱された鉄板の上で油をひいて焼く場合とある。大阪地方の梅焼，厚焼と称する製品は，鉄板の上に擂身を形どつて焼いている。第 22 図は，これら製品の中心温度である。これも，加熱終了後直ちに熱電対を挿入して測定した。この結果を見てもあぶり焼による製品は，かなりの中心温度に達していることが判る。

（c） 油煠製品

関東地方にある，サツマ揚に類似の製品は，大阪地方に於ても種々の名称で市販されている。第 23 図は

* あぶり焼は，直火によつて加熱されるので，加熱中熱電対によつては測定できず，各時間ごとに寒暖計を挿入して測つた。

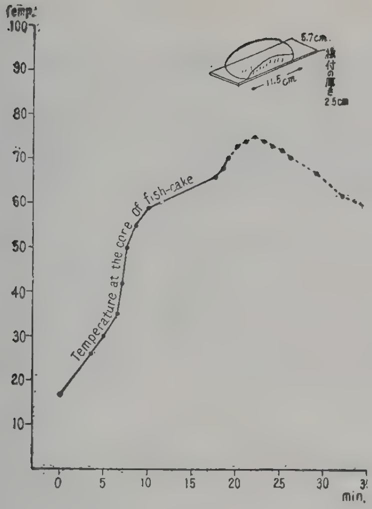


Fig. 20. スギ焼抜，中心温度の上昇様式（岡山）

The rate of heat penetration at the core of baked fish-cake called "Yakinuki Kamaboko" (produced at Okayama district). This sample contains about 20 % wheat starch. Size is 11.5×5.6×2.5 cm.

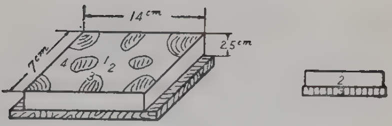
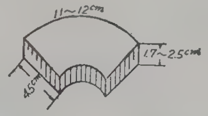


Fig. 21. 焼抜カマボコの焙焼直後の部位別温度

（温度測定位置）		（温度）
（1）	中心表面 1 cm 下	91.5
（2）	中心下より 1/3	84.0
（3）	中心部，板との接点	86.0
（4）	端より 1 cm	79.0
（5）	表面	70.0

Temperature distribution in baked fish-cake at the end of heating. Size is 14×7.0×2.5 cm.

	Positions at which cooking temperature were measured.	Temperature.
1.	Depth, 1 cm from the suface.	91.5°C
2.	Depth, about 1.6 cm from suface.	84.0
3.	Center of bottom contacting with the wooden plate.	86.0
4.	Depth, 1 cm from edge and suface.	79.0
5.	Suface.	70.0



中心部温度
Temperature of core

試料 Sample	No. 1	83.0°C
	No. 2	77.5 〃
	No. 3	79.0 〃
	No. 4	80.5 〃
	No. 6	80.5 〃
平均 Average		80.1+5.5

Fig. 22. あぶり焼（コトブキ）の焙焼直後の中心温度

Temperature of core in the baked fish-cake called "Kotobuki" (produced at Osaka district).

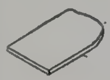
No.	製品の種類及び大きさ Varieties and size of sample			加熱温度 Temp. of cooking	最高中心温度 Maximum temp. of core
Ⅰ	赤てん Akaten	長径 10cm 右端の高さ 3.0 cm		167°	89.4
Ⅱ	ふくさ Fukusa	10×7cm 厚さ 0.8～1.0cm		167°	84.0
Ⅲ	きんぷら Kinpura	10×9×8 cm 厚さ 0.5～1.0cm		137°	84.9

Fig. 23. 大阪地方の油煠製品の中心部温度

Temperature at the core of fried fish-cake.

それらの中心部温度を，油煠後直ちに熱電対にて測定した結果である。各製品とも中心部は 80°C 以上に達していることは，東京近郊のサツマ揚の場合と同様であつた。

Ⅳ. 考　　察

加熱温度を，関東及び関西の蒸煮による板付カマボコについて見ると，まず全般的には，関東では加熱が弱く，関西では強いという傾向が明に認められる。この原則から外れる場合もあるが，両者にはかなりの距りがあることは確実である。加熱の程度を左右する要因の一つは，澱粉の添加量と，使用澱粉の種類即ち馬

鈴薯澱粉か小麦澱粉かという，質的相違にも帰せられよう。

まず小田原カマボコの如く，無澱粉或は極めて少量の澱粉添加のものでは，加熱温度は大体 80°C 止りで過度の加熱は製品の弾力保持の立場から回避されている。これに反して関西のカマボコでは，90°C 以下で加熱されることは殆んどないといつてよい。勿論関東カマボコに於ても，澱粉添加製品の方が加熱温度は高い。第1表は，これまでの全測定結果を整理して各項目別に記載した数値を求めたものであるが，表の示す如く，無澱粉或は極く少量澱粉を添加したものより，澱粉添加カマボコは約 5°C 以上高い加熱をうけていることが判る。

次に加熱方式の，この関西型，関東型の二つの特色は，更に使用澱粉の相違にも関連していることと思う。前述のように，関西は小麦澱粉，関東は馬鈴薯澱粉を主に使用しているが，異る澱粉を用いる根拠が必ずしもその価格のちがいとか，入手の難易といつた経営的な要素が理由ではなく，両者の糊化温度及び加熱による粘性形成の相違*をあげることができる。即ち馬鈴薯澱粉は 58°C，小麦澱粉は 65°C の糊化温度**であり，関西カマボコが経験的に高温処理され，関東カマボコは甚しい強熱を行わないのも，使用澱粉の糊化温度の違いを考慮すれば，当然であると考えられる。

更に，前述した両澱粉が，加熱様式を左右しているということもあげられよう。J. Hofstee, A. H. A. De Willigen[7] によれば馬鈴薯澱粉は，加熱の当初に強い粘性を示すが，以後の加熱により急に低下するに反して，小麦澱粉ではその間の粘性に大きい変化は認められないとしている。このような物理化学的性質をも，二つの加熱様式の特色を比較するとき，考慮されれば，興味あることと思う。即ち関東カマボコでは，配合材料である澱粉にも，一種の足（粘性）を要求している訳であろうし，関西製品では，かなり多量に加えた際も，製品に大きな物理的変化を及ぼさない小麦澱粉が選ばれていると考えても大過ないであろう現に馬鈴薯澱粉を多量に加えたものは，製品に或る種の硬化を来し，味覚にも影響するのであるが，小麦澱粉は多量に加えても，比較的軟かい状態に維持されている。そのよい例として，第 20 図の岡山のスギ焼があげられる。これは 30% にものぼる小麦澱粉を加えてあるが，あまり弾性を示していないのである。

従つて，以上の事実から，小麦澱粉を多く使用する製品では，加熱を行い易いという特徴がある訳であつて，このことは相当程度，カマボコの加熱による滅菌が，無菌化した澱粉さえ使用できれば，可能であるという見通しを与えるものである。

関西の板付カマボコは，外部からネト，カビの発生は避けられないが，比較的内部の腐敗***は，関西型のカマボコに較べて顕著でないようである。これは勿論，製品の重量単位の小さいこと，つまり熱の通りのよいこと，反対に熱の浸透の悪いものでは，梅焼，厚焼の如く，上下からあぶり焼としていること等も関係しているであろう。要するに加熱の問題は，衛生的の問題と並んで，煉製品の品質保持の点からも，更に検討さるべき課題である。これを包装****による保蔵方法と併せて行つたならば，少なくとも本食品に許されている唯一の防腐剤である，ニトロフラゾーンを添加する以上の効果は期待できると思う。事実，第 16 図の魚肉ソーセージは，20°C 前後にて約 14 間その食品的価値を保持していることは，このような推定に対する一つの裏付けと考えられる。

現在までのところ，馬鈴薯澱粉を使う製品よりは，小麦澱粉を使用する製品が，いろいろの観点より品質保持上有利であることは確かであろう。

次に注目される点は，製品の中心部温度の問題である。即ち，市販製品の加熱の実情はどうなつているかということであるが，これは必ずしも製造技術上，食品衛生上，満足すべき状態とはいゝ得ないのである。

* 二国二郎教授による。

** この二つの澱粉の糊化温度は，測定者によつて逆の場合がある。しかし筆者等はカマボコ製造のさい一般に使われる馬鈴薯澱粉が 58°C，小麦（S.3）澱粉は 80°C 前後でそれぞれの粉子が破壊されることをみている。これらについては第二報を参照されたい。

*** 馬鈴薯澱粉と小麦澱粉の，細菌による汚染度は明にされていないが，恐らく小麦澱粉の方が少なく，加熱による滅菌も容易だろう。これが製品の腐敗にも関係していると考えられる。

**** 煉製品の包装による防腐効果については，加熱による細菌の死滅の問題と共に別に報告の予定である

第1表 各種煉製品の加熱と

Summary of cooking temperature and heat penetratio

番号 Number of sample	製品の種類 Varieties of fish-cake	※	高サ×幅×長サ Size of sample cm	加熱温度 Temperature of cooking C	すり身の初温度 Initial temperature of sample C	加熱中止時の中心温度 Temperature of core when cooking stopped C	最高中心温 Maximu temperatu of core
1	小板 Small sized kamaboko	澱 PS	4.0×6.5×14.0	98.5 ± 1.6	19.0	80.0	80.0
2	〃		〃	87.8 ± 3.8	21.0	73.0	73.0
3	〃		2.8×6.5×14.5	84.6 ± 5.1	27.0	76.3	76.5
4	〃	少 L	3.3×5.4×12.5	84.0 ± 5.3	25.0	71.0	72.0
5	〃	無 N	4.0×5.4×12.5	83.7 ± 4.1	26.0	70.0	73.5
6	〃	少 L	〃	80,4 ± 5.6	27.5	66.0	68.0
7	〃	少 L	3.3×5.4×12.5	79.6 ± 6.0	27.0	61.3	67.5
8	〃	少 L	〃	80.2 ± 5.6	25.0	70.0	72.5
9	中板 Medium sized kamaboko	少 L	5.0×6.9×16.4	92.5 ± 2.3	22.0	63.0	65.0
10	大板 Large sized kamaboko	少 L	7.0×9.8×21.6	93.5 ± 2.6	22.5	63.5	65.0
11	はんぺん Hampen (boiled)	澱 PS	3.3×9.5× 9.5	90.0 ～ 93.0	15.0	71.0	71.0
12	〃		〃	90.0 ～ 93.0	15.0	69.0	69.0
13	〃		1.7×8.5× 8.5	81.0 ～ 83.0	13.0	60.5	60.5
14	さつまあげ Fried fish-cake	澱 PS	2.6 × 8.0	192 ～ 196	20.5	54.0	83.0
15	エビまき Fried fish-cake coating shrimp	澱	2.7 × 7.3	189	23.0	48.0	70.5
16	魚肉ソーセージ Fish sausage		3.5 × 16	88 ～ 92.5	16.0	88.5	88.5
17	小板焼カマボコ Small sized kamaboko baked after steaming	小麦澱粉 WS	1.7～2.0×6×13.5	91.3 ± 9.8	26.5	87.0	90.5
18	スギ焼澱 Small sized kamaboko baked	小麦澱粉 WS	2.5×5.7×11.5	炭火のあぶり焼	17.0	70.9	75
19	小板 Small sized kamaboko	小麦澱粉 WS	1.5～2.2×7.5×12.2	84.3 ± 9.1	21.0	83.0	83
20	〃		〃		19.5	79.5	79.5

註 : ※ 澱. 馬鈴薯澱粉添加　少. 馬鈴薯澱粉少量添加　無. 澱粉無添加　小麦澱粉. 小

Remarks : ※PS. Potato starch added.　L. Potato starch added in small amount.　N. Starch not added.　WS. W

心 部 温 度

of various fish-cakes.

度 C	加熱中止時間 Time of cooking min	中心が最高温度に達した時間 Time required to reach maximum temperature min	中心部60°C以上継続時間 Time continued for keeping over 60°C at the core min	中心部70°C以上継続時間 Time continued for keeping over 70°C at the core min	生澱粉検出程度 Presence of raw starch in the core ※※	気温 Room temperature C
	30	30	14	6	—	26
	40	40	14	5	—	26
	35	36.5	32	2.1	—	26～27
	35	36	30	8	±	28
	35	37	約 36	10	/	27
	30	33	23	0	±	27.5
	30	34	18	0	±	28
	37	38	26	5	±	28
	40	45	14	0	±	27
	62	65	23	0	±	27
	6	6	8	1.5	—	26
	6	6	7	0	—	26
	6	6	2	0	卌	26
	5	7	8	4.5	/	26～27.2
	3	6	5.2	1.2	/	28
	35	32	42	35	/	22.2
	20	23	約 29	19	/	26～28
	19	22	23	7	/	24
	18	18	19	12	/	28
	16	16	15	8	/	28

澱粉添加 ※※. 生澱粉検出程度 —. 無 ±. 僅 少 卌. 顕 著

at starch added. ※※. Amount of raw starch remained. —. Non ±. Least 卌. Conspicuous

そのよい例として関東の小田原カマボコ及び半ペンをあげることができる。第8図及び9図でも明らかなように，小田原で最も製造量の多い小板カマボコでも，各工場で，同じ擂身を用いながらその中心部の温度がまちまちであつた。本報告第三報で，河端及び高瀬が明にするように，煉製品に汚染された中毒性原因細菌の加熱致死温度は，少なくとも 73°C を要求されるとしている。従つて小田原カマボコの場合，この 73°C を中心として，中心部温度がまちまちということは見逃し得ぬ問題なのである。

小田原カマボコは，その品質保持上，強い加熱は求められないにしても，このような不均一の加熱は避けられないものとは考えられない。まず前述の第8図第9図及び第 10 図の小田原カマボコは，略同じ擂身より出発しているものであるが，重量単位が異つている場合である。（但し，中，大板は澱粉が小板に較べて僅かに多い）これによると中，大板の場合は加熱温度が約 93°C であつて，小板の平均 79.6°C と比較して約 10°C からの開きがある。中心部温度も，中，大板は 65°C，小板の場合は，66°C～72°C である。もし，大さが違うだけで，三者とも同一の品質を要求しているのなら，この温度の相違は必ずその品質に影響しているはずである。反対に大さを加味して，加熱温度を調節しているのなら，一応外部から調節しているように見えても，その効果は現れていないことなる。これは製造技術的に反省さるべきであろう。更にこゝで主張したいことは，大板，中板に 93°C の加熱が許されるならば，小板にも同様な加熱を与え，少なくとも 73°C の中心温度まで上昇させてのち蒸煮を打切れないかということである。過度の加熱は，使用澱粉が馬鈴薯であることから回避さるべきであろうが，この程度の加熱は可能な筈である。

中心温度が不均一であるという要因には，生産設備と生産量とが不均衡であるという問題以外に，小田原カマボコの加熱管理は，どの工場でも所謂カマボコの「耳切り」(両端を切り落す作業）を行つている者が加熱作業を兼ねている。従つて耳切り作業が多忙の時は，どうしても加熱管理が疎略になり勝ちになるのは当然である。

これに加えて，加熱は必ずセイロ*で行つているが，セイロを積み重ねていくさいの温度は，上段と下段で常に異り，上段が下段より高い傾向がある。これを補う目的から，セイロを天地しているが，これとても，第1図，或は大阪地方で見られる扉のある箱の中で，生蒸気を発生して加熱する場合に比較して，蒸煮温度に相違を来すことは避けられぬことである。実際の測定値から見て，小田原カマボコの場合，種々の問題があることは事実であり，少なくとも 80°C 前後の温度で加熱するならば，小板の場合 40 分間の蒸煮は必要である。

次に板付カマボコの，加熱継続時間という点から更に検討してみると，この点からも，関東と関西のカマボコでは，中心部の温度に相違がみられる。第1表で 70°C 以上の継続時間の項を見ると，関東には少なからず零という欄が見られるが，関西には全くない。ところが 60°C 以上の継続時間を見ると両者の間には差が少ない許りでなく，むしろ関東の方に長時間の数値が得られる。即ち，関東は低温長時間型であり，関西は高温短時間型と言うことができる。このような特色が明瞭に区別されるのは，前述したような使用澱粉の相違の外に，製品そのものの大さにもよるのであろう。現に関東の小板は80匁以上だが，関西の小板は 50 匁止りである。この他，使用原料魚の質的相違も，加熱条件に影響してくる。例えば小田原カマボコを除いて，関東ではよくサメを使用しているが，関西では比較的敬遠されている。殊に鮫を用いた製品は，第3図で示したように，擂身にして加熱すると著しく膨れ上る傾向があつて，過度の加熱により，製品の形態を損ずる惧れがあるに反して，グチ，ニベ，ハモ等では，このような現象は少ないのである。小田原カマボコではサメを用いることは少く，常にグチを主体としているので，この点からも，現に行われている加熱温度及び加熱時間の調節によつて，中心温度を 73°C 以上に上昇させることは可能であろうと考えられる。最近小田原に赴き，中心部 76°C，79°C の製品を偶々実測し得たが，官能的には，この程度強く加熱したことが，製品に甚だしい影響を及ぼしているという徴候は認められなかつた。このような例から中心部温度を 73°C 以上にあげることに大きな困難はあり得ないであろう。

次に，半ペンは，湯煮製品の中では，特に注意さるべき製品である。実測した範囲では 70°C 前後，甚し

* 業者は，セイロで蒸煮することを固執している。

い場合は 60.5°C であつたが，中毒原因細菌の死滅は勿論のこと，添加された澱粉すら糊化されず，全く不完全な加熱と言わざるを得ない。本製品は，短時間の熱処理が慣習となつているが，加熱時間を延長することによつて改善する必要がある。即ち，10cm 正方形，厚さ 2～3cm の一般の製品であれば，加熱温度 90～93°C，7 分以上をすゝめる。

油煠製品及びあぶり焼製品は，比較的問題がないようである。新鮮な油は，再使用による重合した油より沸点が低い訳であるが，蒸煮，湯煮の場合に較べて充分高く，更に油煠，あぶり焼製品は，大さが他の製品に較べて小さいことも，熱の浸透を好条件にしている。たゞ中心部に他の魚肉等を入れて油煠するものに注意さるべきである。

厚生省より指示された 73°C という規定は，現実に行はれている業者の，加熱管理という点から見ても，無理なものとはいえない。少なくとも，この規定によつて，製造技術上，種々の制約をうけるということはないと思う。たとえ，制約が多少あるとしても，澱粉糊化び中毒性細菌の死滅の点から，最低限 73°C という温度が要求されるとすれば，この点に立つて製造技術を再検討すべきであろう。ただ厚生省の指示は澱粉添加製品に限つて，73°C という温度を規定しているが，無添加のものと言えども，この規定に入るべきであることは，上述の結果より明であり，それによつて製造技術に制約をうけることはあるまい。

衛生監視の方法として，製品に寒暖計を挿入して測定することは，往々にして誤差を招きやすい。従つて加熱温度及び時間と製品の大さ（特に厚さ）から中心部の温度の判定を行う方が，実際的にも簡易且つ確実である。ただあぶり焼製品は，加熱温度を一般の方法では測定できないのであるから，加熱終了後，直ちに寒暖計によつて測定する外はあるまい。この際あくまでも温度計の挿入によつて，局部的な上昇或は下降による誤差に注意さるべきである。

要　　約

（1） 東京，小田原，阪神地区及び岡山市に於ける製造工場で行はれている。4 種の加熱方式（蒸煮，湯煮，油煠，あぶり焼）による煉製品中心部温度の上昇様式を熱電対を用いて実測した。

（2） 一般に，中心部の温度は，あぶり焼，油煠，蒸煮，湯煮の順序で低下していく傾向がある。

（3） 板付カマボコは，蒸煮によつて加熱されるが，10 % 馬鈴薯澱粉の添加によつて，中心部の温度上昇はやゝ遅延するようである。従つて，澱粉添加カマボコは，無澱粉（もしくは 1 % 以下の添加）のカマボコに較べて，多少高熱に処理されている。即ち，前者は 85°C 前後，後者は 80°C 前後と見てよかろう。

（4） 大板（450 匁），中板（300 匁）の如く，型の大きいものは中心部温度が低いところで打切られる傾向がある。また，小田原の小板カマボコに於ても，同一擂身より出発している製品で，中心部が平均 6°C～10°C の相違する加熱処理が行はれている。これは，澱粉の糊化の点から，中毒性原因細菌の死滅の目的から、充分注意さるべき問題である。いゝ換えれば，小田原カマボコの場合，蒸煮温度と蒸煮時間の調節によつて，中心部を 73°C に達せしめるよう考慮する必要があろう。しかも，そのことによつて，製品に甚しい悪影響が生ずるという危険はないと思われる。

（5） 関西のカマボコは，主として小麦澱粉を，関東カマボコは，一般に馬鈴薯澱粉を用いている。そして関西の製品は関東のものに較べて，明に高温処理されている。その理由は，両澱粉の加熱による糊化温度の相違及び粘性形成の特異性，使用原料魚の質的相違等によるものと考える。

（6） 湯煮製品の中で，半ペンは極く短時間の加熱処理により製造されている。従つて中心部が 73°C に達していない製品が多い。これは改められねばならない。

（7） あぶり焼及び油煠製品は比較的問題はない。ただ油煠製品の場合，中心部に他の魚肉等を入れたものは，熱の浸透が悪いので注意する必要がある。

（8） 厚生省より指示された，中心部 73°C という規定は，実際の加熱処理の実績から見ても，無理な要求とは思えない。少なくともこの規定を実施する上に，製造上甚だしい制約をうけるということはないと思う。澱粉の糊化及び中毒性細菌の致死の目的から 73°C という温度が要求されるのなら，むしろこの点に立

つて，それに対応する製造技術上の問題を検討すべきだと思う。

（9） 加熱管理が不充分であるという原因の一つに，生産能力と，生産量の不均衡があげられる。従つて年間を通じて多量に製造する時は特に注意さるべきである。

（10） 食品衛生監視方法としては，加熱温度及び加熱時間と，製品の大さ（特に厚さ）を実測して中心部の温度を判定するのが簡易であろう。製品に温度計を挿入して測定する場合は，局部的に下降する温度の誤差に注意すべきである。

本実験を行う当り，多くの業者の方々にお世話になつた。ここにその氏名をあげ得ないが，厚く御礼もうしあぐる次第である。また，各地の業者に連絡していただいた，全国煉製品協会，柴信一専務に心から御礼もうしあぐる次第である。

参　考　文　献

1) 木村金太郎：“水産製造全書” 産業評論社，東京；(1948)，pp 460
2) 清水　亘：“蒲鉾” 生活社，東京，(1949)，pp 114
3) 金子伊喜雄，西毅：水産研究誌，41，1，32～36 (1951).
4) 河端俊治：“蒲鉾便覧” 全国煉製品協会，東京，(1954)，pp 163
5) 厚生省環境衛生部：“魚肉煉製品の製造取扱いに関する衛生上の指導基準”(1953)，pp 2
6) 二国二郎： 農学，2，3，7～11，(1948).
7) G. W. Scott Blair: “Foodstuffs Their Plasticity Fluidity And Consistency”, (1953), pp 1. J. Hofstee. A.H.A. de Willigen: Chapter 1. Starch.

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—II.
煉製品に添加される澱粉の加熱による糊化について

内山　均・天野慶之
(東海区水産研究所)

日本水産学会誌
第二十巻 第九号 別刷
昭和三十年一月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 9. January, 1955

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—II.
煉製品に添加される澱粉の加熱による糊化について

内山　均・天野慶之
(東海区水産研究所)

Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products.——II.
The Relation of Cooking Temperature to The Gelatinization of Starch Granules in fish-cake.

Hitoshi UCHIYAMA and Keishi AMANO

In the commercial fish cake production, potato and wheat starch frequently used to give more elasticity to the products, especially when the raw meat of fish are not capable of forming sufficient jelly-strength. Although why the jelly-strength of "Kamaboko" can be assisted by mixing starch has not yet proved, suitable gelatinization of starch granules is supposed to be a probable factor to attain elasticity of the finished products. Because raw starch granules alone will be no use to make up physical nature peculiar to fish-cake.

Besides this, it has already been found that starch in the natural state is not only resistant to digestion when given to some test animals, but also difficult to convert into a lower molecular compound in the presence of diastase preparation extracted from fungi (Aspergillus oryzae). Among the varieties of starch, potato starch is less digestible than that of rice, wheat or corn. Therefore the gelatinization of starch, especially that of potato starch is a significant problem from the point of view of both jelly-strength and digestibility of the products.

In the present experiment, sections of various fish-cakes, each about 15 microns thick, measuring its temperature before fixing in Carbowax, were examined under microscope or petrographic microscope to ascertain the presence of ungelatinized starch granules. As will be seen in Figs 1 and II, they could not be detected in one sample of "Hampen", when temperature at its core reached 69~70°C., while in another, there remained abundant ungelatinized particles of starch with a maximum temperature being kept at 60.5°C. In some cases of "Kamaboko" tested, there were found a few ungelatinized particles among fully gelatinized ones, in spite that cooking temperature for them was considered well enough.

Although the reasonable explanation for the remaining of these exceptional starch particles can not be approached, yet some extraordinary character of the particle itself and the amount of water locally surrounding it may be assumed as associated factors in this phenomenon.

It has also been noticed that starch added to a fish meat with less jelly-strength is liable to be gelatinize more than the same starch added to a meat having more jelly-strength. Studies concerning these subjects must be undertaken in future.

は　し　が　き

煉製品特有の足（弾力）を補強すること，廉価な製品には増量材とすること，これらを目的として澱粉は配合される。6～7月，小田原などの板付カマボコに添加される0.5～5％程度の馬鈴薯澱粉は前の例であり，竹輪，ハンペン，その他10％以上も加えられるのは後者の場合である。

澱粉配合の目的が，足の補強にせよ，増量材にせよ，生澱粉のままではいずれの目的をも達し得ないはずで，加熱の際，それが糊化することが必要である。又食用とする以上，糊化澱粉の方が消化に適していること

1954年12月27日受理　東海区水産研究所業績B第191号（印刷費負担）

とは当然であつて，厚生省規準[1]の「中心部より生澱粉が検出してはならぬ」という規定もその見地から発している。桜井氏[2]によれば，一般に生澱粉（所謂β澱粉）は甚しく消化困難で，馬鈴薯澱粉は中でも特異的に消化不良であることを，ラッテによる動物飼育で確めている。

これら煉製品中の澱粉の糊化状態については，従来観察例が全くないので，一二調査した結果を報告したい。

I. 試料の処理法及び澱粉粒子の糊化の判定法

澱粉の糊化を判定する方法には，糊化澱粉に Diastase を作用させて，生成還元糖量より間接的に測定する方法[3]，或は普通顕微鏡による澱粉粒子の縞，即ち層線の消失と粒子の崩解を観察する方法，更に，偏光顕微鏡による Interference cross の消失を観察して，粒子の有方性の有無から糊化を判定する方法[4]などがある。これらは，いずれも澱粉粒子中の α-D- glucose を基本単位とする Amylose 及び Amylopectin からなる Micell 構造が解体されて，α 澱粉化することを観察する方法である。X 線による天然澱粉の観察結果からは，所謂 Debye Scherrer[5] 図を多少でも変化せしめ得る最低温度を糊化温度と規定され，この測定値が他の方法による測定値とよく一致するといわれている。従つて，筆者らは，偏光顕微鏡による観察が最も簡単な方法であり，且確実であるので，本方法を用いることとし，補助的に普通顕微鏡* による方法をも併用した。

試料は，市販を目的として製造しているもののみから選んだ。そして加熱温度は，前報と同様に熱電対を用いた。先ず，製造後の煉製品の中心部を切片とし Methanol で固定，次で分子量 1,500，更に 1,500 と 4,000 の等量混合の Carbo-wax[7] に包埋し，最後に 4000 の分子量のもので固定した。観察した切片の厚さは 15μ である。分子量 4000 の Carbo-wax は融点 56°C であり，この中に約 60 分包埋するので，包埋中に澱粉が糊化するかどうか確認しておく必要がある。10 倍量の水と共に，馬鈴薯澱粉を小試験管に入れ，その影響を見たが 4000 の Carbo-wax によつて，澱粉の有方性が消失されることはなかつた。

II. 実　験　結　果

第 1 例は，東京築地の A 工場で，夜間市販を目的として製造されたハンペンであつて，その中心部の加熱曲線は第 1 報，第 12 図の如くである。大きさは，約 10 cm 正方形，厚さ 2 ～ 3 cm のもので，約 10 % の馬鈴薯澱粉が添加されている。加熱は図の示す如く 90°～93°C の湯の中で，約 6 分茹で上げる。前報で述べた如く，この加熱中 2 ～ 3 回上下を反転して，ハンペンの熱の通りを助ける。製品の最高中心温度は 69.5°～71°C であり，検鏡試料は熱電対挿入先端の中心部より採取したが，その結果，第 1 図に示す如く，添加澱粉は有方性が認められず，粒子の崩解も見うけられる。

第 2 例も，築地の B 工場で製造された市販ハンペンである。本工場のハンペンは，約 18 % の馬鈴薯澱粉が添加されてあり，大きさは，A 工場のものよりやゝ小さい。加熱は 83°C で，A 工場の場合に比較して，約 7°C も低い。従つて製品中心部の最高温度も，僅かに 60.5°C にしか達していないのである。（第 1 報第 13 図）中心部の澱粉は第 2 図** に示す如く，著しい生澱粉の存在が認められ，加熱管理の不充分さがよくわかる。

大橋氏[8]は粘度の測定によつて，いろいろの異種植物の澱粉糊化温度を調べた結果，長芋は最も高いとしている。ところでハンペンには，普通山芋を加えるので，上述の如くハンペン中に多数残留する生澱粉は，馬鈴薯ではなく，山芋の澱粉であろうとする疑いも起るが，これら二種澱粉の相違は，粒子の形状，層線及び Interference cross の判別の難易などの光学的性質によつて簡単に区別できるので，本試料中に残留

* 煉製品の場合，たとえ製品中に生澱粉（馬鈴薯）の存在が明かであつても，層線は観察しにくい。この点偏光顕微鏡による Interference cross は明確に観察できる。

** 検鏡は偏光顕微鏡によつたが，撮影装置の不備なため，写真は普通顕微鏡によつた。偏光顕微鏡によれば，当試料中の粒子の Interference cross が明かに消失していることはいうまでもない。

する澱粉は，馬鈴薯の粒子であることを確認している。* 馬鈴薯澱粉の糊化温度が，一般に 58°～60°C とされているが，魚肉擂身中に存在する場合には，後述する如くやゝ糊化温度が上昇する傾向があり，到底，中心部 60°C 前後では糊化され得ないことも馬鈴薯澱粉残留の理由となるであろう。

第3例は，小田原カマボコであるが（第1報，第9，10図参照）このカマボコでは，既述のように夏期は一般に 0.5～5 % の馬鈴薯澱粉を加えて，魚肉の足を補強している。試料は同じく熱電対先端より採取したが，その結果，小板，中板，大板共，生澱粉の甚だしい残留は観察できなかつた。ただ，部分的に小形の粒子で，明かに Interference cross の残留しているのが見られた。同じ澱粉でも，粒子の大きさの異るときは糊化温度に著しい差を生じ，小形の粒子が高いとされているので(4)，それに該当する事実かも知れないが，なお吟味を要する。

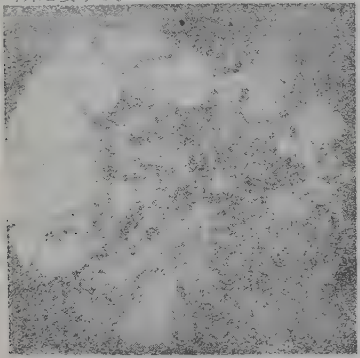


Fig. 1. Gelatinous potato starch granules at the core of "Hampen" (A).

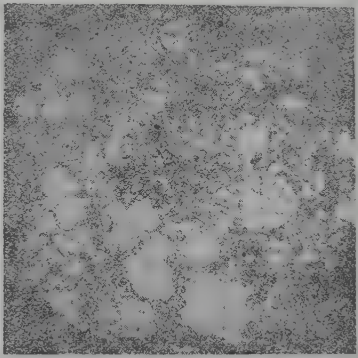


Fig. 2. Ungelatinous potato-starch granules at the core of "Hampen" (B).

Ⅲ. 考　　察

ハンペンの場合，生澱粉がかなり多く残留するが，これは加熱管理が不充分なことに起因しているのであつて，理由については，第1報「中心温度の上昇様式」の項で述べておいた。澱粉糊化の点からも，加熱管理の重要性は，特に強調される必要がある。

ところで，同じ馬鈴薯澱粉でも，煉製品の種類，即ち擂身の相違によつては，糊化温度に相違があるように見られる。ハンペンの擂身では糊化温度が低く，66°C 前後に於て，馬鈴薯澱粉の有方性が全く消失しているのを見ている。これに対して，小田原カマボコの如く所謂足の強い擂身中では，かなり糊化温度が上昇する傾向が見られる。ただし，ここで注意したいことは煉製品中の澱粉粒子の有方性が消失した時に，製品の品質（特に弾力）が最良となるかどうかである。消化の点はとにかく，小田原カマボコのように，澱粉添加の目的が，あくまでも製品の弾力保持のためであれば多少とも未糊化の粒子を残す程度の加熱が，経験的に選ばれていないとはいい切れない。何故なら，澱粉を水と共に加熱しつつ Viscogram** で測定すると，形成された粘性は粒子の崩解と共に，急激に消失するからである。また，J. Hofstee，A. H. A. De Willigen 両氏(9)によれば，馬鈴薯澱粉は加熱の当初に強い粘性を生ずるのに反し，加熱時間の延長と共に逆に減少することを見ている。仮に澱粉の粘性が弾力を維持するとすれば，消化の点は多少犠牲***にしても，

* 馬鈴薯澱粉中には，大小（約120 μ～20 μ）の粒子が混在することを特徴とする。甘藷は比較的小さい粒子で，馬鈴薯ほど大小の相違は著しくない。粒子も多角形に近いものが混在する。また，生澱粉の消化性も，両者は甚だしく違う。

** 横沢氏による。

*** このような製品の好例として，ソバなどがある。歯切れのよい適当な固さを保持するために，全てを糊化させないで，多少生澱粉を残しておくといわれる（二国教授による）。

品質保持の点から，過度の加熱はさけることも止むを得ないであろう。従つて厚生省規準の「製品中に澱粉を加えるものにあつては，内部より生澱粉が検出されてはならぬ」という条項は多少解釈を拡張する必要も残されている。即ち，前述のハンペンの如く，甚だしい生澱粉の検出されている場合は問題外であるが，小田原カマボコの如き場合には，単に少数の生澱粉の検出の有無から，衛生上の基準を設け，食品として不適当であると見ることは出来ないと思う。

一般に澱粉製品の消化の検定には，Diastase による還元糖生成量が採用されている。この点，筆者らの検鏡による方法だけでは不充分である。ただ煉製品は澱粉単一製品ではないから，酵素試験にさいして，予め除蛋白剤の選定に二，三の吟味が必要であり，それについても，一応の結果を得ているので，実際の試料について検鏡結果と一致するかどうか追つて報告する予定である。

第1報で述べた如く，関西では小麦澱粉を，関東では馬鈴薯澱粉を一般に使用しているが，これは現行の両地区の加熱温度の相違，製品の嗜好傾向と無関係ではないようである。即ち関西では加熱が強く，関東では弱いのであるが，その相違は，おそらく両種澱粉の糊化温度の相違，並に粘性形成の機構の相違に帰せられると想像される。岩狭氏[10]によれば，馬鈴薯澱粉は加熱の当初に，小麦澱粉の数十倍の粘稠度があるに反し，小麦澱粉では加熱当初も，その後6時間後も殆んど一定であるとしているが，このことは，弾力形成をねらう関東製品に馬鈴薯澱粉が選ばれる理由であろう。又，関西製品で加熱が高いのは，小麦澱粉の糊化温度が高い以上当然であろう。

ところで，小麦澱粉の糊化の有無を判定するさい，馬鈴薯澱粉に比べて層線* 及び Interference cross の観察が困難であるので，検鏡によつてのみ糊化をきめにくいようである。普通煉製品に使われる，所謂S 3印の小麦澱粉は沃素の呈色，或は粒子の崩解を基準にして検鏡してみると，一般の記述** にある小麦澱粉の糊化温度より，かなり高く観察される。小麦澱粉添加カマボコは，前報第1表でも判る如く，中心部 80°C前後のものが多い。そこでグチに小麦澱粉(S 3印)を10 %添加し，80°C まで加熱したものと，関西α澱粉10%添加したものを試料として，一定量の Diastase を作用させた後の生成還元糖量を定量した結果，甚だしい相違は見られなかつた。これについては，なお温度別に測定を試みる予定だが，一応一般に実施されている小麦澱粉含有カマボコの加熱温度に関する限り，消化の点で甚だしい不都合はないと見ていいであろう。

次に，煉製品中心部の温度がどの程度であるかを知ることは，食品衛生監視の点から重要ではあるが，実際問題として，全て熱電対で測定することは困難であるし，寒暖計の挿入によつて測定することも，往々にして誤差を招き易い。筆者らは，加熱温度と製品の大きさから加熱条件を決めたいと考えているが，澱粉添加カマボコでは，添加澱粉粒子の損傷の状態を検鏡することによつて，中心部温度を観察するのも一方法と考えている。即ち，F. BAKER[11] 氏は Safranin, 及び Niagara blue 4B の染色により，損傷した澱粉を見わける方法について報告している。こうした方法は温度との関連に於て，更に今後追求されるべき課題と思う。

この外，澱粉の消化性を論ずるためには，糊化後の澱粉の老化の問題がある。α澱粉を用い水と共に低温度に放置した木原氏[3]の研究によれば，低温放置により，Diastase による消化率が阻害されることを報告している。又，A. L. POTTER 氏[12] は Potato granules について，老化に及ぼす水分，温度の影響を検討し，水分 45 %，温度 5°，25°，50°C では低温ほど老化が促進されることを見，更に二国氏[9]は老化の最適条件は，水分 30～60 %，温度 0°C としている。

ところで，煉製品製造後の取扱を見ると，老化現象を促進させるような条件が少からず存在する。即ち，板付カマボコでは，市販直前まで冷蔵庫に放置されることが多いし，北海道の焼竹輪では凍結後出荷するか，冬期低温時に多く製造される。

勿論，同じ澱粉であつても，魚肉の共存する場合，小田原カマボコの如く砂糖を多く含む場合，老化の程度は異るであろう。澱粉と蛋白との何等かの結合の問題，砂糖による脱水効果等が老化に影響することも考慮

---

* 薄いクローム酸に浸漬後，検鏡することによつて，観察されるといわれるので追試の予定である。
** 二国二郎　澱粉化学 (pp 182) その他。

すべきことと思う。

要　　約

1) ハンペン，及び小田原カマボコに添加された澱粉の加熱による糊化を，偏光顕微鏡を用い，Interference cross の消失を基準にして観察した。

2) 中心部が 69.5～71°C に達したハンペンでは，添加された馬鈴薯澱粉に有方性が認められるものはなかつた。

3) 同じハンペンでも，中心部が 60.5°C にしか達していないものでは，著しい生の馬鈴薯澱粉が検出される。このような製品が市販されていることは衛生上，或は澱粉消化の点からも注意されるべきである。

4) 小田原カマボコでは，夏期 0.5～5 %程度の馬鈴薯澱粉を加えているが，これに対して，加熱は一般にカマボコ中心部が 70°C 前後に達したところで打切られている。これは馬鈴薯澱粉が過度の加熱により，急激に粘性を消失するという特異性のために，比較的低温度の加熱が選ばれているのであろう。従つて，製品中心部からは，小形の粒子が有方性を残したまま部分的に存在している。

5) 同じ馬鈴薯澱粉でも煉製品の種類，即ち擂身の性質によつて，糊化温度が異る。ハンペンの擂身に比べて，所謂足の強い擂身中では，糊化温度が高くなる傾向がある。

6) 小麦澱粉は関西製品に多く使われているが，馬鈴薯澱粉に比べて層線，及び Interference cross の観察が困難である。従つて検鏡のみによつて，本澱粉の糊化を判定することはできない。

7) 煉製品中の澱粉糊化を検鏡だけで知ることは充分でなく，Diastase による酵素試験などを平行して行う必要を認める。

8) 厚生省指示による「煉製品製造に関する指導基準」中にある「製品に澱粉を加えるものにあつては，その中心部より生澱粉が検出してはならぬ」という条項は多少改められる必要がある。即ち，煉製品の種類によつては，僅かの未糊化澱粉が残留する程度の加熱が品質，或は味覚の上から喜ばれる場合もあり，あくまでも糊化の程度が問題なのであつて，単に生澱粉の検出の有無だけで衛生上の基準とすることは無理がある。

終りに臨み，いろいろの業者の方からの助力を得て，現場での実験を行い又意見を聞かせて戴いた。ここに，その氏名のすべてをあげ得ないが，厚く御礼申し上げる次第である。また，実験その他について，種々の助言を戴いた阪大二国二郎教授，特に，数多く討議して戴いた食糧研究所横沢一二氏，東海区水研岡田稔氏に心から御礼申し上げる次第である。

参　考　文　献

1) 魚肉煉製品の製造取扱等に関する衛生上の指導基準： 厚生省刊 (1953).
2) 桜井芳人： 食糧研究所報告，No. 5, 41～49. (1951).
3) 木原芳次郎，川瀬善一： 食糧研究所報告，No. 2, 25～34. (1949).
4) 大町芳文： "澱粉の科学及利用", 4版，成美堂　東京 (1933), pp. 60～61.
5) 二国二郎： "澱粉化学", 朝倉書店　東京 (1951), pp. 182.
6) 同　上　　同　上　PP, 94
7) 鈴江　懐，市田文弘： 綜合医学. Vol. 8, No. 19, (1951).
8) 大橋一二： 昭和 29，日本農芸化学会大会講演.
9) J. Hofstee, A.H.A. De Willigen: "Food Stuffs their Plasticity Fluidty and Consistency" (1953), pp. 1～34. G.W. Scott Blair: Chapter I "Starch".
10) 岩狭興三郎： "食物化学", 共立社　東京 (1954), pp. 142～143.
11) F. Baker: J. Aci. Food. Agr 3, 608～12, (1952). Chemical abstract(1953), 3593 による。
12) A. L. Potter: J. Agr. Food, Chem. May 12, (1954), pp. 516～520.

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—III. 汚染及び中毒原因細菌の加熱致死条件について

河端俊治・高瀬　明・天野慶之
（国立予防衛生研究所）（国立公衆衛生院）（東海区水産研究所）

Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products.—III. Thermal Death Condition of Some Causative Organisms of Food Poisoning and Other Enteric Bacteria in Fish-cake Products

Toshiharu KAWABATA, Akira TAKASE and Keishi AMANO

1. Bacteriological examination on some kinds of fish-cake from several factories in Tokyo has disclosed that they were highly contaminated with various kinds of microorganisms and not commendable from the view point of food sanitation.

2. When the heat resistance of several enteric pathogens and some additional enteric bacteria in phosphate buffer solutions as well as in raw material of fish-cakes were tested, these bacteria were found much more stable against heating in fish-cakes than in phosphate buffer solution.

3. On the basis of Ball's theory, temperature requirement for processing the fish-cake products was calculated.

4. "HAMPEN" is usually free from Coli group bacteria, while Enterococcus are likely to survive in it. In some cases greater numbers of bacteria were recovered from this type of fish-cakes. Such insufficient heat processing might probably be attributable to a fact that fish-cakes are often manufactured over the production capacity of factories under sanitary control.

5. In case of small-sized "ODAWARA KAMABOKO", almost all the harmful bacteria might be killed when the temperature reached over 72°C, at the core of the products, while below 67°C some of both Coli group bacteria and Enterococcus added in the raw material survived. As for the products of the same factory, some were sufficiently, while other apparently not pasteurized, suggesting how inconstant the empirical and sensory heat processing is.

It seems rather difficult for the medium and large sized "ODAWARA KAMABOKO" to attain an adequately high temperature at the core. In consequence the bacteria involved were liable to survive.

6. "AGEMONO", fried fish-cake, were generally well pasteurized, where as such products containing different materials in them as "EBIMAKI" (rolled shrimp) occasionally disturbed heat conductivity, and were often found not suitable for pasteurization.

7. Many important problems concerning the heat conductivity in such fish-cakes in processing course have been remained unsolved. The processing temperature of fish-cakes at 73°C. as recommended by the Ministry of Public Welfare is, however, likely to be adequate considering the experimental results mentioned above.

ま え が き

煉製品が原因と見做される食中毒は極めて多い。最近の厚生省の統計によれば，魚介類及びその加工品による中毒は全中毒例の過半数を占めており，殊に煉製品による中毒件数は魚介類についで第2位を占め，その患者数に至つては略々これに匹敵するといわれ，その衛生対策については各方面から重大な関心が払われている。而もその大部分は細菌性食中毒（この中には所謂腐敗中毒も含まれる）であるが，これは煉製品自体が水分が多く，蛋白質，澱粉を始め砂糖，ミリン，その他の調味料を含み，人間にとつて栄養物である

1954年12月27日受理，東海区水産研究所業績 B 第192号（印刷費負担）

と共に，微生物にとつてもまた絶好な培養基でもあるからである。

煉製品による中毒が発生しても，必ずしも何時も製造業者の責任である訳ではなく，むき出しのまゝ取扱われ販売されたり，或は小売店舗，料理屋，折詰の仕出屋等における不潔な取扱いが原因となることもあり，時には末端の消費者自身の責任に帰すべき場合すらある。一方，中毒原因細菌の附着混入時機について考えてみると，原料より製造工程までの経路で擂身中に入り，而も加熱処理に耐えた場合と，製品になつた後の取扱い上の不注意即ち二次汚染とに分けられよう。元来煉製品は缶詰のような貯蔵食品と違つて，加熱後も製品中に微生物が残存するので，その中心温度の高低によつては，当然生残る細菌の種類にも差があり，場合によつては比較的耐熱性の少い病原菌ですら生残ることがないとはいえない。こゝでは二次汚染の場合はさておき，食品衛生の立場より煉製品の加熱を再吟味した。即ち加熱による汚染及び中毒原因細菌の死滅条件について検討をした。対象とした煉製品は今回は東京附近で最も大衆性のあるハンペン，小田原カマボコ，揚物に限定した。

実　　験

I　予備実験　各種煉製品擂身の汚染度

この実験は昭和 28 年7月に実施したもので，東京都内の業者により全く商業的条件下で作られたハンペン，焼板，揚物，椀種の擂身の汚染状態を調べた。測定項目並に方法は次の如くである。

1. 総菌数：食品衛生検査指針[1] の乳製品検査法に記載の Breed 法に準じて測定を行つた。結果は 1 g 中の菌塊値（C.M.C.）にて示した。

2. 生菌数：標準寒天培地を用い同上指針記載の混积平板法により測定した。培養は 37°C，48 時間とし結果は 1 g 中の菌数にて表した。

3. 大腸菌群：同上指針記載の術式に従つた。但し，試料の調製には検体の 10 倍容の滅菌生理食塩水と共に滅菌乳鉢にて磨砕した。結果は 100 g 中の最確数（M.P.N）にて示した。

4. パラ大腸菌：予研阪口氏の考案になるパラ大腸菌群簡易検出法[2] を用いた。確定は多価免疫血清を用いるスライド凝集反応によつた。

5. 血液寒天平板生菌数：普通寒天培地に 5 %の割に脱繊維馬血液を加えて作成した平板培地に，数段階稀釈した試料 0.1 cc ずつをとり，コンラージ棒にて均等塗布し 37°C にて 48 時間培養した後に形成したコロニーを算定した。尚同時に溶血環生成の有無により溶血性菌数を調べ，代表的なコロニーより釣菌し，染色鏡検することにより桿菌球菌の別も調べた。

6. 芽胞数：生菌数測定の際の原液の残部を沸騰水浴中で 10 分間加熱後冷却したものについて標準平板培養法により形成を見たコロニー数をもつて芽胞数とした。結果は 1 g 中の芽胞数にて表わした。

以上の項目について得られた結果は第1表に示した。

Table 1. Status of the bacterial pollution of various raw material for fish-cakes.

Type of products	1 HAMPEN	2 HAMPEN	3 HAMPEN	4 YAKIITA	5 AGEMONO	6 WANDANE	7 HAMPEN	8 HAMPEN	Remark
Total count (1 g)	2.0×10^7	1.6×10^7	2.6×10^7	1.9×10^9	2.2×10^9	4.8×10^8	1.1×10^9	9.6×10^8	Breed's method, C.M.C
Plate count (1 g)	4.1×10^6	1.3×10^6	6.2×10^6	2.5×10^8	5.2×10^8	2.3×10^7	4.9×10^7	4.7×10^9	S.P.C 30°C, 48hrs
Coliform (MPN/100 g)	1.6×10^5	4.3×10^4	1.8×10^5 (+)	1.8×10^6 (+)	1.6×10^6	3.4×10^5	9.2×10^5	3.5×10^5	After complete test
Para colon	−	−	−	−	−	−	−	−	H_2S test, slide agglut
Enterococci (MPN/100 g)	4.5×10^3	1.3×10^4	1.3×10^3	1.8×10^4 (+)	5.4×10^3	9.2×10^3	1.8×10^4 (+)	9.2×10^3	6.8 medium
Blood agar plate count (1 g)	L: 21×10^4 S: 4×10^4	L: 7×10^4 S: −	L: 37×10^4 S: 12×10^4	$>3.0\times10^7$	1.6×10^7	2.6×10^7	5.2×10^7	1.6×10^6	Horse blood, 100°C10 min. heating
Spore count (1 g)	50	40	50	>300	>300	0 (in 0.1 g)	>300	>300	After 100°C, 10 min. heating

実験は盛夏行つたものであるとはいゝ乍ら，擂身の汚染は全く著しいものがあつた。それ故若し，加熱が不十分なようなことがあれば，これ等の菌は生存し，危険なことがあるのはいうまでもない。煉製品による中毒が殆ど 4～5 月より 9 月頃までの夏季に頻発する現状より見て，擂身の汚染はまた直接間接中毒に無関係であるとはいゝきれない。このように菌数の多いことは，加熱による菌の死滅を防げる傾向があり，又たとえ，有害菌はなくとも二次汚染の原因となり製品の鮮度低下の促進に重要な役割を演ずることも想像に難くはない。それ故擂身自体の汚染防止は食品衛生上はもとより，製品の保蔵上からも見逃すことの出来ない要点であろう。

II　各種汚染細菌及び中毒原因細菌の熱抵抗

細菌の熱抵抗は菌の種類，菌株，前培養の種類，期間，後培養の条件を始め，加熱を受ける時の基質の種類，pH 等各種の因子によつて左右される。又蛋白質や糖は加熱致死に保護作用をするし，酸やアルカリ或は或種の薬物の添加は死滅を促進させる。しかし今迄の文献で見られる試験管内のデータを直ちに実際に応用出来ないので，今回改めて煉製品擂身中における汚染及び中毒細菌の死滅条件について基本的な検討を行つた。

1.　実験方法

（1）　供試菌：供試菌は第 2 表に掲げた各種中毒原因及び汚染指標細菌であつて，Salmonella（サルモネラ菌属）3 株，Paracolon（パラ大腸菌群）3 株，Escherichia（大腸菌）4 株，Aerobacter（産気菌）1 株，Micrococcus（ブドウ球菌，従前は Staphyllococcus と称したもの）2 株，及び Enterococcus（腸球菌）5 株である。それ等の中大腸菌（E. coli）は研究室の保存菌株（Coli communis）の外，猿の糞便より分離した Mon-20；Mon-49 の 2 株の他，煉製品より分離した数多の菌株中最も耐熱性の強かつた J 株（加熱後のハンペンより分離したもので，Imvic system で Coli I 型に属する）であり，腸球菌も同様煉製品よりの分離菌を使用した。菌株は耐熱性の強い No. 49，sp ①，sp ② 及び耐熱性の弱い No. 2 株を用いたが，何れも Streptococcus faecalis に属するものである。

（2）　測定方法：

（イ）　基礎耐熱性の測定は，普通寒天斜面（但し腸球菌は 0.5 %ブドウ糖加血液寒天斜面）に 18～24 時間培養した供試菌の菌体を Sörensen 燐酸緩衝液中に均等懸濁し，（1 cc 中に約 5×10^6 の生菌を含む）これを外径 6 mm 長さ 65 mm の滅菌小試験管中に 1 cc ずつ無菌的に分注した。加熱は電気恒温水浴中で行つたが，同一条件の測定は 3 本ずつ行い，所要に応じ試験を 2～3 回反覆した。加熱後は冷水中にて急冷し後培養に移した。後培養に用いた培地は普通ブイヨンである。

（ロ）　ブイヨン中での熱抵抗：供試菌の均等懸濁液は普通ブイヨンにて作成したが，試験方法は（イ）の緩衝液の場合と全く同様であつた。

（ハ）　煉製品擂身中での熱抵抗：供試擂身は商業的条件下で作成したハンペン（ヨシキリザメを主原料とし，澱粉，山芋を含む）及びカマボコ擂身である。後者には澱粉を 10 %含有するものと無澱粉の擂身を用いた。供試菌には基礎耐熱性の既知の大腸菌（E. coli（Mon-49）及び（J））2株及び腸球菌（Streptococcus faecalis（49）1 株を用い，その菌の生理食塩懸濁液を各擂身中に十分混和した。各擂身中の添加菌の濃度は何れも 10^6 程度である。供試菌を添加した擂身を 1 g ずつ径 13 mm 長さ 70 mm の滅菌綿栓付アルマイト製遠心管中に加え，加熱効果を均一にするため煮沸滅菌したステンレススチール製ミクロスパーテルにて管の底部に一様な薄い層状に展布して加熱を行つた。加熱は電気恒温水溶中にて行つたが各加熱時間には熱伝導を考慮に入れて，表面の温度が一定に達するまでの時間を加えた。（その測定にはミクロパイロメーターを使用したが，各温度とも今回の測定範囲では 1 分間としておいた）。

尚，今回の実験に平行して，供試菌液の代りに同量の滅菌生理食塩水を添加した各擂身についても，全く同じ条件で加熱を行つた。（これは各擂身は既に相当程度の汚染を示しているからである）

加熱後冷水中にて急冷してから後，煮沸滅菌したミクロスパーテルにて凝固した擂身を細砕し，全量を無菌的に後培養に移した。後培養用の培地は大腸菌には BGLB 培地（ブリリアントグリン乳糖胆汁ブイヨン）を用い，37°C にて 48～72 時間培養後にガスを生成したものを更に EMB 平板（エオジンメチレン青培地）移し，それに発育したコロニーについて，予め供試菌にて作成した免疫血清にてスライド凝集反応を行つ

て，供試菌の生死を判定した。腸球菌は，Perry-Hajna の SF ブイヨン培地[3]（Sodium azide 加ブドウ糖ブイヨンで，腸球菌選択培地）にて発育したものを更に SF 寒天培地（同上ブイヨンに 1.5％の寒天を加えたもの）に移植し典型的コロニーを形成したものを生存と判定した。

2. 測定結果

（1） Sörensen 燐酸緩衝液中での基礎耐熱性及びブイヨン中での熱抵抗は第2表に示した如くである。

Table 2. Heat-resistance of various bacteria (1).

Medium	Organism examined	Duration of test at temperatures					
		50°C	55°C	60°C	65°C	70°C	75°C
Sörensen's phosphate buffer, pH 7.0	Salmonella	min.	min.	min.	min.	min.	min.
	S. enteritidis, 1891	＞30	5±	1−	1−	1−	
	S. typhi-murium, 1074		15±	1−	1−	1−	
	S. cholerae-suiss, 174	＞30	7.5+,10−	1−	1−	1−	
	Paracolons						
	Arizona D.C.S		5+,10−	2.5±	1−	1−	
	Ballerup 20964	＞30	2.5+, 5−	1−	1−	1−	
	Bethesda Na 14	＞30	2.5±	1−	1−	1−	
	Escherichia coli						
	Mon-20 (isolated from monkey feces)			2.5+,5−	1−	1−	
	Mon 49 (isolated from monkey feces)		15+,20−	5±	1−	1−	
	communis		30±	2.5+,5−	1−		
	J (isolated from Hampen)		＞60	15+,2,−	2.5+, 5−	1−	
	Micrococcus						
	m. pyogenes aureus		5+,10−	1−	1−		
	m. 〃 albus		25±	7.5+,10−	1+,2.5−	1−	
	Enterococci						
	Str. faecalis 2		15+,20−	1−	1−	1−	1−
	〃 49			＞50	5+,7.5−	1+,2.5±	1−
Ordinary broth medium, pH 7.0	Escherichia coli						
	Mon-20		20+,30−	5+,7.5−	1−		
	Mon-49		20+,30−	5±,7.5−	1−		
	J		＞40+	＞15+	＞10+		
	Micrococcus						
	m. albus		2.5+,30−	5+,7.5−	1−		
	Enterococci						
	Str. faecalis 49			40+,50−	5±,7.5−	1−	
	sp ①				10±,12.5−	1−	1−
	sp ②			＞15+	7.5±,10−	1±,5−	1−

＋: survived　　　－: killed

この結果より判るように，吾々の行った実験の範囲では大腸菌及び腸球菌を実用的に有害細菌の代表と見做して差支えないであろう。殊に大腸菌中 E. coli（J）株は相当耐熱性が強く，腸球菌中 Strept. faecalis 49, sp ① 及び ② の3株は耐熱性が強かった。これ等の菌は病原性がないので取扱いに好都合で，擂身中での熱抵抗及び製品えの混入試験には専らこれ等を使用した。

（2） 擂身中での熱抵抗は第3表に示しておいた。

第2，第3表を較べてみると，擂身中での加熱死滅時間は著しく延長されることが判った。その結果は後で示してある第4表中の食物燐酸塩比（Food phosphate factor）を見るとはっきり判るであろう。

Table 3. Heat-resistance of various bacteria (2).

Organism examined	Medium used (Sort of raw material)	Duration of test at temperatures				
		55°C	60°C	65°C	70°C	75°C
		min.	min.	min.	min.	min.
Escherichia coli (Mon-49)	HAMPEN	>50	>30	5+,7.5−	1−	
	KAMABOKO (Starch added)		20+ 25−	2.5+ 1−	1−	1−
	KAMABOKO (without starch)	>60	15+ 20−	2.5+ 5−	1−	
E. coli (J)	HAMPEN			20+ 25−	1+ 2.5−	1−
	KAMABOKO (starch added)		>40	15± 20−	1+ 2.5−	1−
	KAMABOKO (without starch)		>40	10+ 15−	1+ 2.5−	1−
Enterococci Str. faecalis-49	HAMPEN		>100	25+ 30−	5+ 15−	1−
	KAMABOKO (starch added)		>60	20+ 25−	2.5+ 5−	1−
	KAMABOKO (without starch)		>60	15+ 17.5−	2.5+ 5−	1−

（3） 食物燐酸塩比は pH 7.0 の燐酸緩衝液中での熱抵抗と食物中での熱抵抗の比であり，比が1より大きいことは加熱致死に保護作用があることを意味している。保護作用はハンペンが最も大きく，カマボコ摺身では澱粉の加わつたものゝ方が無澱粉のものよりも大きい。又この保護作用は菌株によつて異つており，E. coli (Mon-49) では該比が7にも達する。ハンペン摺身中で熱抵抗が強く現われたのは摺身には多量の澱粉と山芋が混入されているので，それ自体の保護作用のほか山芋を加えたために多量の空気が入り，海綿状となつていることが主原因となつているのであろう。

澱粉加カマボコ摺身は保護作用が強いほか，澱粉中には多くの芽胞形成菌が混在しているし，又加熱時の熱伝導も無澱粉のものにくらべ悪い点からいつても，加熱時には一層の注意が必要とされよう。

（4） 供試菌の摺身中の熱抵抗を見ると大腸菌中 E. coli（J）株が相当強く，Mon-49 株はこれにくらべて弱いことが判つた。（基礎耐熱性の点より考えると他の中毒原因菌はこの Mon-49 株より稍ゝ弱いか同程度であつた）腸球菌 Strept. faecalis (49) 株は大腸菌（J）株よりも遙かに耐熱性が強かつた。この菌は最近では食物中毒菌の一つとして注目されており*，しかも一般に大腸菌よりも耐熱性その他の抵抗力も強いということより考えても，従来よりの汚染指標細菌としての大腸菌のほかに，この腸球菌が煉製品の加熱の可否を示す指標細菌として重要な位置を占めるといつて差支えない。

考　　察

市販煉製品の加熱の可否の検討

1. 煉製品の加熱と有害細菌死滅限界の計算　　実験Ⅱで求めた中毒及び汚染原因細菌の熱抵抗を基礎として，缶詰の殺菌限界の計算に用いられた Ball の理論[4] を煉製品に適用して，商業的条件下で製られた煉製品の加熱による有害細菌の殺菌の可否の検討を行つた。供試細菌の摺身中での加熱による致死量を A とすると，

$$A=\frac{1}{F}\int Ldt=K\frac{S}{F} \quad \cdots\cdots(1)$$

* Dack 著 "Food Poisoning" 中には中毒原因細菌の一つとして本菌を α-型 Streptcocci として挙げている。

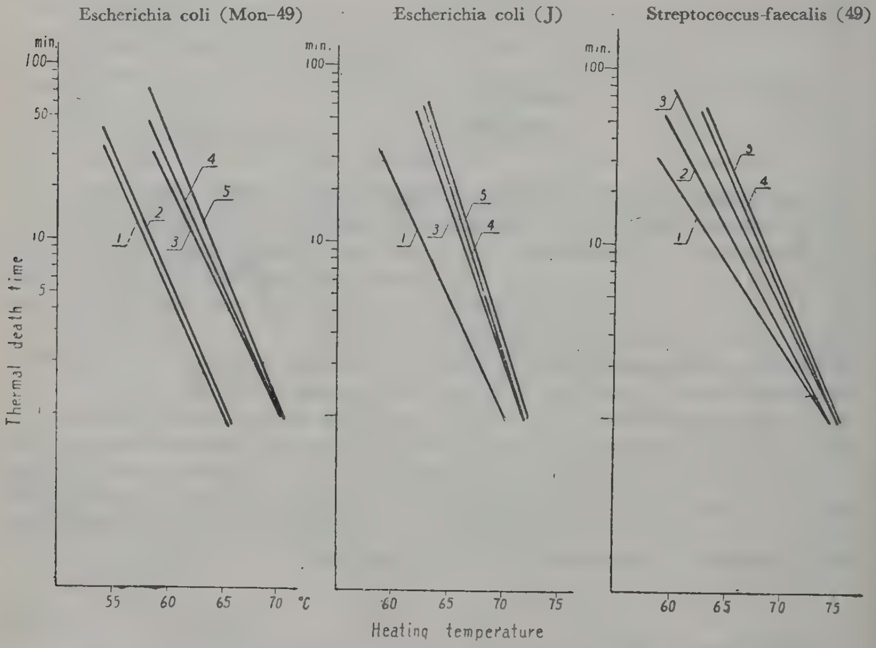
$$\text{但し} \quad \log_{10} L = \frac{T-C}{Z} \cdots\cdots(2)$$

S：L-時間曲線の占める面積（cm^2）
F：基準温度における細菌の死滅時間（分）
T：加熱時の中心部温度（°C）こゝでは東京都内及び小田原で商業的条件下で実測した第1報のデータを使用した。
C：細菌致死曲線における基準温度（°C）
Z：細菌致死曲線の傾度（温度係数）

こゝでもし $L=1$ を m cm で示し，d 分が 1cm であるようにグラフの尺度をとると，(1) 式は

$$A = \frac{S}{E} \cdot \frac{d}{M} \cdots\cdots(3)$$

にて表わされる。この時 $A=1$ であることは殺菌が過不足なく行われたことを意味する。供試菌の Z は実験Ⅱ，第3表を図示した次の第1図より求めたもので，Z，F 値及び食物燐酸塩比をまとめたものが第4表である。



(1) Medium, heated in Sörensen's phosphate buffer sol., pH 7.0;
(2) Ordinary broth medium, pH 7.0;
(3) Raw material of Kamaboko (without starch);
(4) Raw material of Kamaboko (starch added);
(5) Raw material of Hanpen

Fig. 1. Thermal death time curve of bacteria examined in various medium.

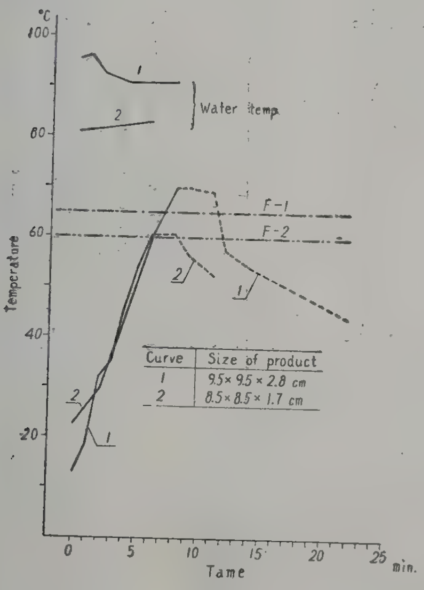
T は第1報に示したデータの一部を用いたのであるが，こゝで使用した中心温度変化曲線のうちカマボコに就ては第2図，ハンペンは第3図，揚げ物は第4図にて示してある。

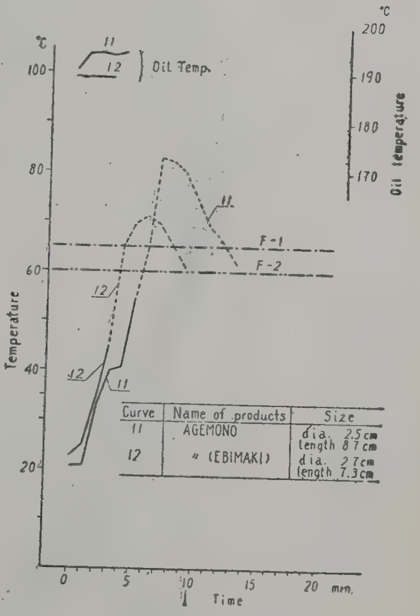
各種の T 値に第4表記載した F，Z 値をそれぞれ代入し，それより L，S の値を図計算によって求め，これより A の値を算出したのであるが，各種製品についての殺菌効果をとりまとめたものが次の第5

Table 4. Z, F Values and food-phosphate factor.

	Enterococci (Str. faecalis, 49)			Coli bacilli 1 (E. coli, Mon-49)			Coli bacilli 2 (E. coli, J)		
	Z	F (at 65°C) min.	Food-phosphate factor	Z	F (at 60°C) min.	Food-phosphate factor	Z	F (at 65°C) min.	Food-phosphate factor
Sörensen's phosphate buffer (pH 7.0)	10.5	7.5	1	7.3	5.0	1	7.5	5	1
Ordinary broth medium (pH 7.0)	9.3	11	1.5	6.7	5.4	1.1			
Raw material of HAMPEN	6.8	30	4.0	6.5	35	7.0	5.0	25	5.0
Raw material of KAMABOKO (starch added)	7.0	25	3.3	7.3	25	5.0	5.0	20	4.0
Raw material of KAMABOKO (without starch)	8.0	17.5	2.3	8.0	20	4.0	5.5	14	2.8

Z: Inclination of the thermal death time curve of bacteria examined (Temperature coefficient).
F: Time required for the thermal death of bacteria examined at a given temperature (minute).

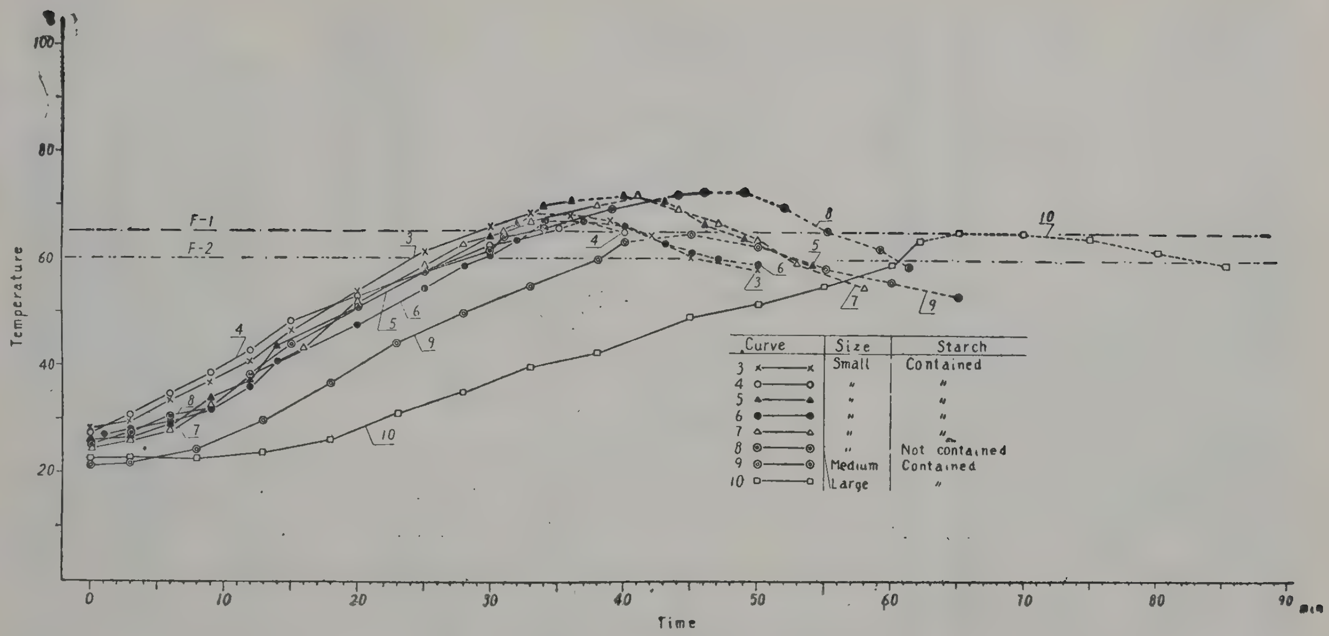




Note: 1. Solid lines, heating curves,
broken lines, cooling curves.
2. F-1, F for E. coli (T) and Strept. faecalis (49);
F-2, F for E. coli (Mon.-49).

Fig. 2. Change in temperature at the core of HAMPEN.

Fig. 4. Change in temperature at the core of AGEMONO (Fried fish-cake).



Note 1. Solid lines indicate heating curves, and broken lines cooling curves.

2. F-1 , F for E. coli (T) and Strept. faecalis (49).
F-2 , F for E. coli (Mon-49).

Fig. 3. Change in the temperature at the core of ODAWARA KAMABOKO.

Table 5. Summary on the lethal effect of heat treatment upon various bacteria.

No.	Sort of fish-cakes	Size	Starch	Heat Treatment: Heating period (min.)	Heat Treatment: Cooling period (min.)	Heat Treatment: Maximum temp. reached (°C)	Enterococci (Strept. faecalis, 49): S (cm²)	Enterococci: A	Enterococci: Fate of bacteria	Coli baccili, 1 (E. coli Mon· 49): S (cm²)	Coli baccili, 1: A	Coli baccili, 1: Fate of bacteria	Coli baccili, 2 (E. coli, J): S (cm²)	Coli baccili, 2: A	Coli baccili, 2: Fate of bacteria	Lethal effect of heat treatment
1	HAMPEN	×9.5 cm	ca. 10 %	8	15	70	21	0.7	+	72	2.0	–	36	1.4	–	Insufficient
2		×8.5 cm	18 %	6	10	60.5	0.8	0.03	+	4	0.11	+	0.4	0.02	+	〃
3	ODAWARA KAMABOKO	Small type	Contained	33	17	68.5	32.7	1.3	–	16.2	6.5	–	43	2.2	–	Sufficient
4			〃	31	14	67	16	0.6	+	86	3.4	–	18	0.7	+	Insufficient
5			〃	36.5	18.5	72	96	3.8	–	432	17.3	–	210	10.5	–	Sufficient
6			〃	32	19	67	19.1	0.76	+	95	3.8	–	18.6	0.93	+	Insufficient
7			〃	38	32	72	83	3.3	–	376	15.0	–	154	7.7	–	Sufficient
8			Wthout	47	15	72.6	111	6.4	–	444	31.7	–	246	12.3	–	〃
9		Medium type	Contained	40	30	65	8	0.3	+	47	1.8	–	6	0.3	+	Insufficient
10		Large type	〃	62	28	65	16	0.6	+	82	3.2	–	14	0.7	+	〃
11	AGEMONO (Fried)	dia. 2.6 cm Length 8.0 cm	Contained	5	8	83	930	37	–	3510	140	–	9950	398	–	Sufficient
12	EBIMAKI (Rolled shrimp)	dia. 2.7 cm Length 7.3 cm	〃	3	6	71	17.4	0.7	+	76.8	3.1	–	34.2	1.7	–	Insufficient

Note :

S : Area within the L-time curve, (cm²) where $L=\log 10^{-1}\dfrac{T-C}{Z}$

A : $A=\dfrac{S}{F}$

where F : time required for the thermal death of bacteria examined at a given temperature (minute).
Z : temperature coefficient.
T : temperature at the core of the product examined.
C : a given temperature on the thermal death time curve of bacteria examined.

表である。

2. ハンペンの加熱　　第5表にある普通に作ったハンペン（No. 1）では大腸菌は死滅しても腸球菌は生残るという結果が得られた。そこでそれを確めるために，都内A工場においてそこで作られた摺身の中に供試菌を混入し，全く前記と同じ実際的な条件下でハンペンを製造し，加熱放冷後汚染を防止しながら直ちに実験室に運搬し，無菌的に中心部をとつて，B.G.L.B. 培地，S.F 培地に接種して大腸菌及び腸球菌の生死の判定を行ったのであるが，その結果は第5表の結果によく一致したのであつた。（この際も勿論中心温度の変化を測定し計算を行つた。）ところが製品（No. 2）では熱抵抗の弱い大腸菌の Mon-49 株ですら生残るという結果が得られた，これは第1報及び第2報にも既に記載してあるように明かに熱処理が不完全であって，このような製品に危険性が多いということはいうまでもないことである。この製品は都内B工場で作られたもので中心温度は 60.5 C にしか達せず，中心部よりは夥しい生澱粉が検出されたものであつて，同工場では生産能力以上の無理な製造をしていることが主な原因と思われたが，煉製品の多くは極めて小規模な家内工業的に製造され，設備も不完全でその取扱いも兎角不潔になりやすい実態からして，製造規模と生産能力のバランスということについて食品衛生の立場からも一層の注意が望まれる。

3. 小田原カマボコ　　小板の場合には中心温度が 72°C に達したものでは完全に供試菌の死滅は期待出来るけれど，67°C 以下では腸球菌も大腸菌も生残るという結果が得られた。同一工場の製造でも加熱温度に可成り変動があることは第2図よりも判るところで，時に不完全なことがあることが判つた。これは十数段も重ねたセイロを作つての加熱が専ら経験や勘にのみたよつている* ことに原因があるようで，このような熱管理はいかに頼りなく危険が多いものであるかということを如実に示す実例であろう。

中板・大板になると長時間の加熱にかゝわらず，中心温度は最高 65°C 位にしか達しないので，混入菌の殺菌には不十分であることが判明した。特にこの大型のものは折詰等に用いられることが多く，しかも折詰中毒では殆どといつていゝ位に煉製品が引合いに出されている現状よりみても，不注意な取扱いによる二次汚染のほかに，加熱処理自体にも検討の余地が多く残されているように思われる。無澱粉又は殆どそれに近い中型小田原カマボコでは中心温度が大体 70°C に達すれば一応殺菌の目的が達せられることが計算より求められたので，吾々は実際に生菌を摺身中に混入して製造試験を行つたところ十分であることが確められた。しかしこのような条件で品質的に何等悪影響を与えるものでないことは，この試験を行つた小田原某工場の熟練した技術者が認めておるところである。

4. 揚げ物　　油揚げは一般に火の通りがよく安全に殺菌されているといつて差支えないのであろう。しかし，第4図に判るようにエビマキの例では中心の最高温度は 71°C に達したが，時間が極めて短いので菌の生残る可能性はある。

5. 以上のことを綜合すると厚生省より出された「煉製品製造に関する指導基準」に示された澱粉入り製品に対する中心温度 73°C という数字は一応妥当のように考えられる。そしてこの温度に達すれば可成り時間を要するのが通例で中毒原因細菌の殺菌も期待出来るであろう。又このような条件で品質に悪影響があるとは思われない。しかし「基準」の中には無澱粉のものが除外されているのは片手落で，当然同じでなくてはならない筈である。

従って煉製品の製造に当っての加熱は出来るだけ高温で処理出来るように更に加熱方法、熱管理に一層の工夫、改善が必要であつて，又不均一な加熱とならないようにすれば少くとも製造時加熱に由来する危害は防止出来るものと考えられる。

要　　約

1. 夏季（7月）に東京都内の某工場で作られた各種煉製品の汚染度を調べたところ，各種細菌によって著しく汚染されていることが判明した。もし加熱によって十分殺菌されなければ極めて危険であることはいうまでもないことである。

---

* 事実吾々の直接見たところでは，有名な老舗業者でも熱管理のため寒暖計も備付けておらず，十数年もの古い経験を有するといわれる釜番が加熱操作のかたわら，整形の一部を担当しておって，多忙の際は特に熱管理が十分に行われない状況であつた。

2. 各種中毒及び汚染指標細菌の基礎耐熱性及び煉製品の摺身中での熱抵抗を調べたところ，摺身中では細菌は仲々死滅しにくいことが判つた。

3. それ等の結果より缶詰の Ball の理論を応用し，製品の加熱による殺菌限界を計算し，市販製品の加熱の可否の検討を行つた。

4. ハンペンは普通に作られたものでは大腸菌は死滅するが，腸球菌は生残ることが推定されたが，製品によつては可成り危険性のあるものもあることが判つた。これは生産能力以上に無理をして作つた結果である。

5. 小田原カマボコの小板では中心温度 72°C に達したものでは完全に菌の死滅が期待されるけれど，67°C 以下のものでは腸球菌も大腸菌も生残り得る。又同じ工場の製造でも加熱の十分なものとそうでないものもあることは，経験と勘で行つている熱管理が如何に不確であるかということを物語つている。中板，大板では長時間の加熱を行つても仲々中心温度は上昇しにくいので菌が生残る場合が多い。このような製品の加熱方法には多くの検討，改良の余地が残されている。

6. 油揚げは一般に安全に殺菌されているといつてもよいであらうが，エビマキ等のように中心に異質のものが入つているときには時に不十分なことがあることが判つた。

以上のような事柄より考えて厚生省より出された指導基準の 73°C という温度は一応妥当であるといえよう。

終りに御指導を頂いた国立予防衛生研究所遠山祐三先生に深甚な感謝を捧げるとともに，パラ大腸菌の菌株を分与された阪口玄二氏，実験に協力された上村正雄，三浦利之氏に感謝の意を表わす。

文　　献

1) 食品衛生検査指針，協同医書出版社　東京，(1951).

2) 阪口玄二，阪口澄子：食品衛生研究，2，11～17 (1953).

3) A. A. Hajna and C. A. Perry：Am. J. Pub. Health，33，550～556 (1943).

4) 川口武男，岡田光世：罐詰学 p. 45，厚生閣

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—IV.
煉製品摺身の製造工程中に於ける
細菌汚染とその防止効果

高瀬　明・河端俊治・天野慶之
(国立公衆衛生院)　(国立予防衛生研究所)　(東海区水産研究所)

日本水産学会誌
第二十巻 第九号 別刷
昭和三十年一月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 9. January, 1955

水産煉製品に関する食品衛生学的研究—Ⅳ. 煉製品摺身の製造工程中に於ける細菌汚染とその防止効果

高瀬　明・河端俊治・天野慶之
（国立公衆衛生院）　（国立予防衛生研究所）　（東海区水産研究所）

Food Hygienical Studies on Japanese Fish-cake Products—Ⅳ. Bacterial Contamination Occurred during the Manufacturing Process of HAMPEN (a Kind of Fish-cake Products) and the Sanitary Control.

Akira TAKASE, Toshiharu KAWABATA and Keishi AMANO

As shown in the previous paper (Ⅲ), ground materials for some fish-cakes were found highly contaminated with various kind of microorganisms. At the same time, heat processing of these products proved insufficient. Among these products, HAMPEN seems to be the one, for which the heat processing was especially insufficient. The present study has been carried out in order to find out possible sources and chances of contamination of HAMPEN and away how to prevent it from the bacterial pollution during its manufacturing process in the light of food sanitation. The results obtained revealed that a large part of contamination of the ground raw material of HAMPEN occurred in handling of raw fish and in the grinding process in mortar. Such a high pollution could be mainly attributable to the raw material itself which had already been polluted before storing, as well as the careless treatment in some processes of manufacturing. Use of "quaterneries" as a germicide seems to be promissing for preventing the products from the bacterial contamination during the manufacturing process.

ねり製品の加熱は，缶詰の殺菌加熱と比較すると，遙かに低温であるから，製品中の細菌群の質的量的構成も，原料・摺り身の汚染状況に左右され易く，製品貯蔵性にも影響するし，摺り身自身が加熱製了後の製品の汚染源となる機会も尠くない。事実，前報（第Ⅲ報）[(1)]に掲げたように，摺り身中の細菌数は甚しく多いのであるから，その汚染の経路を明かにすることは，煉製品の保存性のみならず，食品衛生学的見地からも重要である。こゝでは，製造工程の汚染の関係並に汚染源を陽性石鹼で処理した場合，その防止効果の有無について検討を加えた結果について述べる。

実験の対象及び実験方法

実験の対象としては，すり身製造工程が比較的多岐に渉り，且つ加熱温度が低いハンペンを選んだ。製造工程の大要及び材料組成は第1表に示す。表に見られるように，すり身製造工程は低温短時間で，この間細菌の見るべき増加を許すことはないと見做してよいから，この工程中の細菌数の増加は，外部からの汚染に基くと考えて差支えないであろう。

この場合，工程中の各段階が相互に対応を有し，独立でないことから，各1工程を1シリーズとして取扱い，各工程段階のすり身につき衛生検査指針の方法に従つて生菌数及び大腸菌群 M. P. N. を検査した[(2)]。そしてこの各シリーズの検査を 10 回繰返えしているが，これは，別に各段階の衛生管理を行つた場合の効果を知る目的があり，かつ衛生管理実験は現場での実施上の制約から1シリーズのみしか行えないため，そ

1954 年 12 月 27 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 193 号（印刷費負担）

Table. 1: (A) Constituents of the ground raw material of HAMPEN. (per one mortar)

Materials	Weight(kg.)	%	Bacterial count	M.P.N of coli group
Fish flesh	26.25	66		
Salt	0.94	2		
YAMAIMO	1.9	5	3.2×10^6	2.3×10^4
Starch(potato)	6.75	17	3.5×10	3.3×10^3
Ice	3.75	10		

(B) An outline of the processing of the ground material.

(Course of manufacturing)	(Time needed for treatment or standing)	(Temperatur of flesh)
Raw fish		
↓ Handling the fish		
↓ Scraping off the flesh	12 hr.	Slightly frozen
↓ Mincing the flesh	5 min.	0°C.
↓ Grinding with salt (in mortar)	5 min.	1～2°C.
↓ Grinding with "YAMAIMO" (in mortar)	15 min.	4～5°C.
↓ Grinding with starch (in mortar)	20 min.	—
↓ Ground raw material	3 min.	—

の効果を明確に検出するためには，各工程段階数に等しい繰返えし数に更に 4，5 例を追加しなければならなかつたからである(3)。

結 果 及 び 考 察

上記により得られた成績を一括図示すると第1図及び第2図となり，なお，各図には各工程段階の菌数の平均値に関する棄却限界（危険率5％)，及び衛生管理を行つた際の工程の経過をも併記した。

（1） 製造工程中の生菌数の変化

第1図の生菌数を見ると，各シリーズ毎の生菌数の変化は，かなり変動を示して居り，特にⅢの工程，すなわちチョッパー通過後のものが，Ⅰ・Ⅴの工程，則ち身卸後のもの及び山芋添加後のものに比べて明かに分散が小さい。之は検体の均一性に恐らく関係があると考えられ，従つてサンプリングの際には出来るだけ採取個所に起因するサンプリング誤差を防ぐ注意の必要を示した結果ともなつている。

次に各段階に於ける菌数の変化からは，いずれの段階間にも有意差は認められないが，結局この程度の例数では，生菌数を指標とした際の菌数増加は認められないと云える。之は原料身卸肉が多量の菌数を含むので，これ以後の工程での汚染源が，この菌数以上の汚

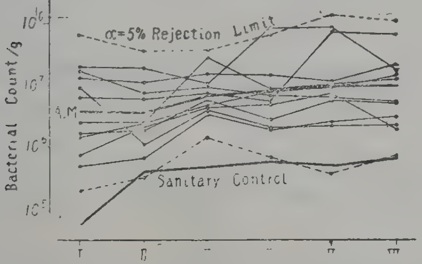


Fig. 1. Changes of bacterial counts in processing of ground raw materials of HAMPEN

Ⅰ. After handling the raw fish (start of test).
Ⅱ. After scraping off the flesh.
Ⅲ. After mincing the flesh.
Ⅳ. After grinding meat with salt.
Ⅴ. After grinding meat with "YAMAIMO" (a Japanese yam).
Ⅵ. After grinding meat with starch.

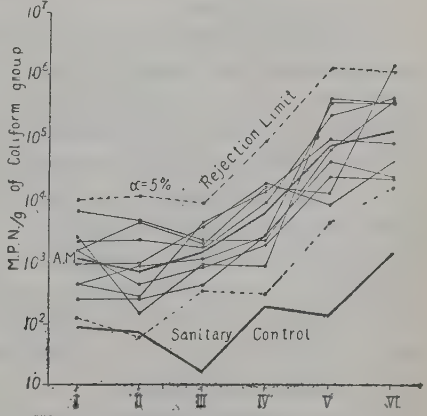


Fig. 2. Changes of M. P. N of coliform group in the processing of ground raw material of HAMPEN.

Ⅰ. After handling the raw fish (start of test)
Ⅱ. After scraping off the flesh.
Ⅲ. After mincing the flesh.
Ⅳ. After grinding meat with salt.
Ⅴ. After grinding meat with "YAMAIMO" (a Japanese yam).
Ⅵ. After grinding meat with starch.

染をすり身に与えない限り，事実上菌数増加として観察し得ない事を意味するだろう。第1表を見れば，各添加材料の細菌含有量はいずれも身卸肉の細菌数以下であることが知れる。従つてこの図から身卸作業以後に汚染が行われていないと断定出来ない。むしろ以後の添加材が全く無菌的であれば，夫等の添加によるすり身の増量が起る結果，逆に細菌数が減少して行く筈であるから，本図のようにそれが見られない事は製造工程中の汚染が引つゞき起つて居ることを示すとして差支えないであろう。この身卸肉には多量の細菌が存在するが，その来源は原料魚の鮮度低下のため肉中に初めから存在していたか，或は身卸作業中の汚染によるかのいずれかであるが，魚体表面を無菌的に除去した後，表皮直下の肉につき検査した結果を見ると，生菌数 10 ～ 100/g であつて，身卸作業中の取扱いによる汚染が主原因であることが確められる。

以上により，生菌数を指標とした場合，ハンペンすり身の製造工程中に於ける明確な汚染源は身卸作業中に存在し，以後の工程に於ける汚染は，存在しても検出し得る程のものではないと云う事になる。

（2） 製造工程中の大腸菌群数の変化

第2図がそれであるが，各シリーズとも生菌数の場合と同様にかなりの変動があり，やはり肉挽後の検体（Ⅲ）が塩摺り後（Ⅳ）及び山芋添加後（Ⅴ）のものに比べて明かに分散が少ない点興味深い。

次に，工程別の菌数増加傾向を見ると，全体として擂潰機中での塩摺り以後に有意の増加が認められ，一方各段階毎に検討して見るとⅢ～Ⅳ及びⅣ～Ⅴの各段階間に有意な増加があり，すなわち塩摺り及び山芋添加の各作業中に汚染が起ることが明かである。又生菌数の場合と同じく，身卸肉にも既にかなり多数の大腸菌群が存在するが，前記同様魚肉自身について検査したところ，少くとも1g 中には大腸菌群が検出されないことが確められたので，やはり身卸作業中に大腸菌群の汚染が生じたと断言出来る。

以上により，結局大腸菌群を指標とするハンペンすり身製造工程中の汚染は，身卸作業及び擂潰機中での塩摺り及び山芋添加作業に生起する事になるが，この内，擂潰機中での汚染源として食塩，山芋等の添加材料を想定するのは，その添加量並に生菌数から見てやゝ無理である。むしろ，汚染の相当部分は作業中の取扱いに起因するものと見做す外はない。

（3） 陽性石鹼処理の効果

上記の各成績に鑑み，製造工程の各段階を現状の許す範囲で管理を行い，その効果を調べてみた。但し原料肉の添加材料等は特別の処理は行わずに添加した。なお，処理法は大体次の通りである。すなわち魚体表面（ヨシキリザメ），組板その他の器具容器，手指，及び採肉，肉挽各機械を陽性石鹼含有水（処理対象により 100～500 倍）で洗滌後，水道水で再度洗滌した。こゝで陽性石鹼を殺菌剤として使用したのは，無色，無臭で毒性が非常に少なく，且つ殺菌効果に持続性があると云われているためである。なお，擂潰機は排水が困難なので製品中に殺菌剤の移行をおそれ，水道水のみで洗い陽性石鹼を使用していない。

成績は第1図，第2図に併記した通りであつて，生菌数，大腸菌群数ともに，各段階の一般のものゝ棄却限界から大部分がはづれて居り，更に正確に1シリーズの標本経過として検定すると両菌数とも 99 %に近い信頼度のもとで，無管理の場合の経過よりも菌数が少ないことが確認された。

従つて，以上によりこの方法による衛生管理がかなり有効であつた事が確められた訳であるが，たゞ本実験は1シリーズのみであるから，之だけで陽性石鹼の効果だけによるとすることは出来ない。

（4） 殺菌剤による衛生管理効果

次に，主として殺菌剤の効果を検出する目的で水洗のみの場合と比較を行つて見た。但しこの場合には工程の経過を追う必要はないから，製了後のすり身のみにつき検査を行うこととし，又工程中の衛生管理は前実験によつて相当に有効な事が判つたので，業者に方法及び重点を指示して以後は自主的に行つてもらつた。

その結果は第2表の通りであり，水洗及び殺菌剤によつて管理した場合，双方かすり身とも対照の無管理の場合のすり身との間に有意差は認められず，失敗に終つた。之は，更に解析の必要はあるが，管理を業者に一任したため，有効な処理が行われなかつた事によるもので，実際問題として常時実施するためには今後検討の余地があると考えられる。現在のねり製品工場では，処理能力以上の作業を行つて居る場合があまりに多く，従つて作業員の労作が過重であつて，前例の如き衛生管理の実施は先ず望めないのが実情であろう。

（5） **すり身細菌数の季節的変化**

次に始めの汚染源探索のための検査は7～8月に行い，衛生管理の効果判定の実験は 10 月に行つたもので，その間に季節的な差があるのでこの両回に得られたすり身について各菌数の比較検討を行つた。その結果は，8月に行つた際のすり身の菌数は，各検体間の分散が甚だ大きく10月のものと比較すると明かに分散比が有意差を示している。この原因は，夏季に於ては高気温のため周囲の汚染源となり得る環境が，わずかの要因の変化によつて著しくその濃度を異にし，そのために汚染度が大きな変動を示すものと考えられる。なお，分散に差のあることを無視すれば8月に於けるすり身の菌数は 10 倍程度 10 月におけるものよりも多いことが認められるが，この原因も恐らく原料自体の菌数が多いことよりも，外界の汚染源が濃厚であることに起因すると考えられる。

Table. 2. Effects of sanitary control on the processing of the ground flesh.

Exam. \ Control		Without any control	Using water	Using germicide
I	Bac.*	1.3×10^6	6.3×10^5	9.5×10^5
	Coli**	7.9×10^3	4.9×10^2	1.3×10^3
II	Bac.	1.4×10^6	9.5×10^5	6.4×10^5
	Coli	1.3×10^4	1.7×10^4	3.5×10^4
III	Bac.	2.3×10^6	1.4×10^6	1.4×10^5
	Coli	1.8×10^3	1.1×10^4	2.4×10^4
IV	Bac.	1.3×10^6	1.5×10^6	1.1×10^6
	Coli	—	1.3×10^3	6.8×10^2
V	Bac.	1.9×10^6	1.9×10^6	2.3×10^6
	Coli	3.3×10^4	2.4×10^4	1.3×10^4

* Bacterial count per 1 gr. in the ground flesh.
** M. P. N. of coliform group per 1 gr. in the ground flesh.

要　　約

1） 加熱が一般に不充分となり易く，一方すり身製造工程の段階が比較的複雑なハンペンにつき，そのすり身製造中の細菌汚染経路及び汚染防止効果について検討した。

2） 生菌数を指標とした場合，身卸作業中の取扱いによる汚染が最も明瞭であつたが，この際の汚染が甚しいため，以後の工程中の汚染は検出し得なかつた。一方，大腸菌群を指標とした場合，身卸作業及び擂潰機中での塩摺り，山芋添加の各工程に於て，著明な汚染を生ずることが確められたが，いずれも取扱による汚染が主であつて，添加材料による汚染は少ないことが推定された。

3） 陽性石鹸を主体にして，各工程を衛生管理した結果，無管理のものよりも明かに菌数の少ない経過をとることが確められた。しかし，その効果が殺菌剤によるものか否かにつき検討を行つたが，明確な成績は得られなかつた。

4） 夏季のすり身は秋季のものよりも，各検体間の菌数の分散が大であり，之は汚染源の濃度の変動によるのであろう。又夏季のものの方が菌数が多い傾向にあつた。

参　考　文　献

1） 河端俊治，高瀬明，天野慶之： 日水会誌，本号，836～846，(1955).
2） 厚生省編： 食品衛生検査指針，協同医書出版社　東京，(1951).
3） 増山元三郎： 小数例のまとめ方と実験計画の立て方，河出書房　東京，pp. 54～58. (1951).

脂質の榮養価に関する研究—XI.
高度不飽和酸の榮養価及び毒性について (2)

金田尙志・櫻井寿恵・石井清之助
（東海区水産研究所）

日 本 水 産 学 会 誌
第 二 十 巻 第 一 号 別 刷
昭和二十九年五月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 1, May. 1954

脂質の榮養価に関する研究—XI. 高度不飽和酸の榮養価及び毒性について (2)

金田尙志・櫻井寿惠・石井清之助
(東海区水產研究所)

Studies on the Nutritive Value of Lipids——XI. Nutritive Value or Toxicity of Highly Unsaturated Fatty Acids (2)

Takashi KANEDA, Hisae SAKURAI and Seinosuke ISHII

In the previous paper* we have established that the nutritive value of highly unsaturated fatty acids is not much lower than that of oleic acid, and that long-believed toxicity of highly unsaturated acids is not produced by the acids themselves but actually by formation of autoxidized matters.

The observation led us to an assumption that natural unsaturated fatty cids around C_{18}, even if different in the autoxidation degree, would always become less nutritious by some autoxidation.

The assumption was confirmed by examining the toxic effect on rats of the autoxidized product which was prepared from the ethyl ester of liquid acids of linseed oil, as the rats were all died in a few days after the feeding.

On the basis of these findings our efforts have been extended to throwing light on the structure of the toxic product of the above description. The methods used for and the result obtained from the present test are as follows:

(1) The autoxidized products were prepared by leaving the original ethyl ester of liquid acids of linseed oil, about 3mm. deep in basin, open to atmospheric oxygen under 30°C, 50 hours.

(2) As shown in Table 1, the autoxidized products are fractionated by urea adduct formation, and the nutritive or retarding effects of each fractions are examined.

(3) Fraction 1 separated from the autoxidized products (consist mainly of un-autoxidized esters) does not give any retarding actions to the rats, however, fraction 2 and 3 which do not form urea adducts show the toxic effects on the animals (Table 5). From these results it is apparent that aldehydes have no harmful effect upon the rats.

(4) On the other hand, polymerized highly unsaturated fatty acids which contain small proportion of peroxide show the nutritive effects to the rats (Table 6) and no retarding effects are noticed.

(5) Judging from these results, the toxic effects which yield from the autoxidized acids should certainly be attributable mainly to production of peroxide-structure.

In oder to prove this assumption, we liberated the peroxide of autoxidized products by Lea's peroxide-determination method.[11] In consequence, peroxide liberated products became "not-toxic" (Table 7).

1954 年 5 月 4 日 受理 (印刷費負担) 東海区水産研究所業績第 148 号

On the basis of this result we have come to conclusion that the most toxic structure in autoxidized unsaturated fatty acids is peroxide which has been produced at the beginning of autoxidation.

* Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries Vol. 19, 171(1953)

I 緒　　言

筆者等は本研究の第８報[1]において，従来有毒とされていた高度不飽和酸は精製を十分に行えばいさゝかも毒性を示さぬことを認め，さらに従来信じられていた高度不飽和酸の毒性は高度不飽和酸そのものではなく，実は高度不飽和酸の自働酸化生成物であることも明らかとした。この結果は高度不飽和酸ばかりとはかぎらず，不飽和脂肪酸全部についていえるのではないかと考え，アマニ油液体酸エチル・エステルを用い第８報に報じた方法と同様にして動物試験を行つたところ，果して全く同一の結果を得た。これ等の結果をもとにして考えると，不飽和酸は二重結合数を増すにつれ，酸化をうけ易くなることは当然だが，酸化されにくい不飽和酸でも一たん自働酸化をうけたものはみな毒性を有するように思われる。そこで不飽和酸の自働酸化により生ずる酸化生成物のうち，毒性を示すものを分離し，その構造を究明しようと試みた。

この際筆者等は不飽和酸の自働酸化により生ずるとされる過酸化物，共軛酸，重合物，アルデヒド，ケトン等の全部が同程度の毒性を示すのではなく，これ等のうちの特定のものが特に強い毒性を示し，その他のものは無毒か，ないしは弱い毒性しか示さぬだろうと予想した。

この考え方を証明するため，上記自働酸化生成物を夫々分離し，そのおのおのについて動物試験を行うことにした。不飽和酸を自働酸化させる場合，軽度の自働酸化においては，もとの不飽和酸があまり変化することなくかなり残存する。また筆者等の第８報においても，こうした状態の時の毒性が最も強いことを認めている。

不飽和酸自働酸化生成物の濃縮法としては従来幾つかの報告があるが最近のものを分類してみると，まづPrivett[2] 等は Skellysolve F とアルコールを用いて酸化生成物の分離を行い，Chang[3] 等は Skellysolve F とエーテルの混合比を変えて分別している。また Zilch[4]，Fugger[5]，Cannon[6] Privett[2] 等は向流分配法による分離を試み，Atherton，Hilditch[7] 等はシリカゲルを用いるクロマトグラフにより分離を行つた。更に数年来，尿素附加物による分離が Catravas[8]，Coleman[9]，Daniel Swern[10] 等により報告されている。

そこで筆者等もこれらの方法を用いて，自働酸化生成物の分離を試みた。即ちまづ Privett 等の行つた方法に従い，石油エーテルと 85 %酒精を用いて分離を計つた。ところが酸化生成物の大部分はアルコールに可溶となるが多少は石油エーテル可溶部にも残る。また動物試験により毒性の程度を調べると両者とも白鼠に対し有毒であつた。つまりこの方法は不飽和酸自働酸化生成物を濃縮し，その性質を調べるためには有効だが，筆者等の望む完全に無毒な部分の分離には役立たぬことになる。そこで Atherton，Hilditch等の行つたシリカゲルによるクロマトグラフを応用してみたところ，本法もシリカゲルに吸着されぬ部分に有毒成分が入りこむため目的を達し得なかつた。但しこれを更にアルミナを用いてクロマトを行うと，アルミナに吸着されぬ部分は全く無毒となる。しかしアルミナ層より吸着物を完全に溶出せしめることはかなり困難で各種溶剤を用いても完全には回収し得ず，しかも処理の途中において，試料は更に酸化をうける恐れが多分にあつた。

そこで尿素附加物による分離を試みたところ，自働酸化せしめたアマニ油液体酸エチルのうち 75 %は尿素附加物を作り，動物試験の結果は全く無毒であつたが，尿素附加物を作らぬ部分は極めて強い毒性を示した。尿素附加物を作つた部分は未変化アマニ油液体酸及び比較的低分子の重合体及びアルデヒド等を含むが，過酸化物含量は僅かである。一方尿素附加物を作らぬ部分はアルデヒドは僅かしか存在せぬが，過酸化物価は高く，また共軛酸量も多い。更に分子量も前者に比しやゝ大きい。

これ等の結果よりしてアルデヒドはたいして毒性を有せず，毒性の本態は，側鎖を有する脂肪酸，ラクト

ン，重合物，共軛酸，過酸化物ということになる。ところで不飽和酸が重合する場合，低温と高温とでは重合物の性質が異り，低温の場合には過酸化物価は高くなるが，高温の場合，過酸化物価は上らぬことを Atherton，Hilditch[7] 等はすでに認めているし，筆者等の実験においても同様の結果が得られている。

高度不飽和酸を高温で重合せしめ，沃素価を下げたものを用い，動物試験を行つてみると毒性は全く現われず，白鼠はよく成長する。この結果からして過酸化物を含まぬ高度不飽和酸の重合物は無毒であることがわかる。また共軛二重結合を有する化合物には毒性を呈するものがあることが古くから知られている。筆者等の扱つた不飽和酸低温酸化生成物は6％程度の共軛酸を含み，これは白鼠1日投与量としては 0.03 g に当る。試みに桐油を用いて共軛酸をこの5倍程度白鼠に与えてみるとほとんど毒性は現れぬ。このことから共軛構造は不飽和酸自働酸化生成物の示す毒性の主因とは考えられぬ。

以上の結果よりして，不飽和酸酸化生成物中に含まれるもつとも毒性の強い部分は側鎖を有する脂肪酸かラクトンあるいは過酸化物に帰せざるを得ない。

即ち自働酸化生成物中尿素附加物を作らぬ部分の分子量をラスト法により測定すると，原脂肪酸より多少分子量を増すにもかゝわらず，その鹸化価は大きくなり，アルコール性苛性カリにより切断されやすいような形の側鎖，あるいはラクトンを分子中に含むことを認める。そこでこうした化合物の毒性の有無はひとまずおき，酸化生成物の毒の本態を過酸化物として実験を進めてみた。

即ち過酸化物が主たる毒性を示すとすれば，自働酸化生成物から過酸化物を除いたものの毒性は全くないか，あるいはごく微弱となるはずである。そこで過酸化物価定量の際と同一方法[1]を用い，沃度カリを酸化生成物に加え，過酸化物を除き，その毒性を調べたところ，予想の如く毒性は問題とならぬほど弱まり白鼠は斃死しない。（但し白鼠は多少下痢をおこした)。

以上の結果から，不飽和酸酸化生成物中最も毒性の強いものは過酸化物であることを認めたが，残された問題は過酸化物が体内でいかなる働きをするために毒性を生ずるかということである。自働酸化生成物を経口投与する場合まづ過酸化物は白鼠の胃中において，胃液のため H_2O_2 を生じ，それが毒性を呈することが考えられる。そこで自働酸化生成物に胃液の酸濃度に略々等しい 0.7％ HCl を加え，40°C の恒温器に時々振盪しつゝ，2.5 時間保ち生ずる H_2O_2 の量を人工的に定量したところ，生ずる H_2O_2 量はせいぜい 0.4 mg 程度であつた。またオキシドールをこの 10 倍量白鼠に投与してみたが全く毒性は認められなかつた。一方0.7 ％HCl 酸性に保つた酸化生成物の過酸化物量はあまり減少せず，これが体内に吸収される可能性が考えられる。

事実 Dubouloz[12] 等によれば白鼠に経口投与した過酸化物は 1.5 時間後，消化管中に略々その半量が見出されている。なお東京医大松尾氏[13]はウサギに不飽和酸自働酸化物を与えると，腸管の弾力がなくなつてしまうことを認めているが，これらの結果から考えると，腸管に達した酸化生成物が直接あるいは過酸化物から二次的に生じたものが腸壁をおかすために毒性が生ずるとも考えられる。

II 実験の部

A 供試アマニ油液体酸エチル： 常法により製したアマニ油混合脂肪酸に5倍量のアセトンを加え－15 C に一夜放置し，析出する固体酸を濾別し，アセトンを減圧で除いた後エチル・エステルとし，更に真空蒸溜に附したものを石油エーテルに溶かし，アルミナを用いてクロマトグラフを行い出発物とした。本エステルを 3mm 程度の厚さにシャーレに流し 30° 恒温器中に放置し自働酸化せしめた。

本自働酸化物 100 g をとり，これを尿素 700 g を溶かした無水メタノール 1l に投入し，50°C でよく均質化せしめた後一夜放置し，尿素附加物を濾別した。(Fr. 1) 濾液は水を加えてメタノールを 85 ％まで稀釈し石油エーテルを用いて抽出をくりかえし石油エーテル可溶物を分別した。 (Fr. 2)

石油エーテル可溶物を除いたメタノール溶液は更にエーテルを用いて抽出を行つた。(Fr. 3)

なお尿素附加物は尿素を飽和した冷メタノールで十分洗滌した。(洗滌液は Fr. 4 とす)
これら各区分の一般特数は Table 2 の通りである。(過酸化物の定量は Lea の方法[11], 共軛酸は Am. Oil Chem. Soc. Official and tentative method: Cd 7-48) によつて算出した。

Table 1. 尿素附加物によるアマニ油液体酸自働酸化物の分離
Diagram showing scope of fractionation of autoxidized liquid acids of linseed oill by urea adduct formation

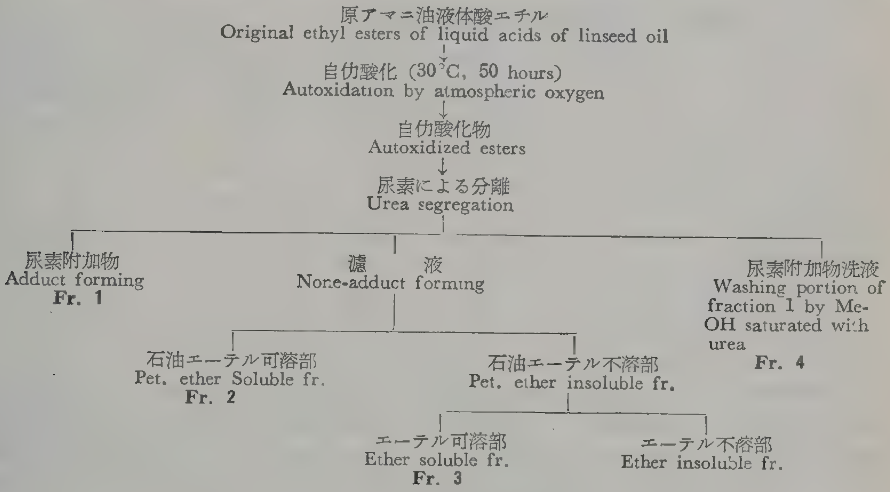


Table 2. アマニ油自働酸化物尿素処理各区分の性状
Anlysis of the samples used in the experiments

試料油 Sample ester	得量 Yield (%)	酸価 Acid Value	鹼化価 Sap. Value	沃素価 Iodine Value	過酸化物価 Peroxide Value (M. E. /kg)	分子量 Mol. Wt.	クライス・テスト Kreis Test	共軛酸 Conjugated acid (%) Diene	Triene	Tetraene
原アマニ油液体酸エチル Original ethyl ester of liquid acids of linseed oil	—	0	176.01	160.28	0	—	—	4.97	0	—
同自働酸化物 Autoxidized esters of above acids	—	6.47	184.85	137.45	818	—	⊕	6.07	0.08	0
第1区分 Fraction 1	74.9	3.58	177.30	143.44	66	331	⊕	1.01	0	—
第2区分 Fraction 2	6.1	14.86	213.20	116.43	2432	352	⊕	20.15	0	0
第3区分 Fraction 3	11.9	3.83	242.97	77.53	3170	354	⊖	17.63	0.69	—
第4区分 Fraction 4	3.7	—	223.43	106.91	2406	—	—	—	—	—
(Total 96.6)										

本結果を見るに尿素附加物を作る区分（Fr. 1）は過酸化物,共軛酸の含量少く，原アマニ油液体酸及びそれが多少重合したものより成るように思われる。また尿素附加物を作らぬ Fr. 2,3 は多量の過酸化物を含み二重結合の移動が起り共軛酸を含む。なお Fr. 3 はアルデヒドを含んでいない。

高度不飽和酸エチルの重合物 第8報において報じたと同様の方法により製した高度不飽和酸エチル・エステルを石油エーテルに溶し，アルミナを用いてクロマトグラフを行い精製した。本エステルに触媒として酸性白土2％を加え，120°C に6時間真空重合せしめた。得たる重合物の性状は次表の如くである。

Table 3. 高度不飽和酸エチル重合物の性状

Properties of the polymerized ethyl ester of highly unsaturated acids

	N_D^{40}	沃素価 Indine Value	鹸化価 Sap. Value	過酸化物価 Peroxide Value(M.E./Kg)
オレイン酸エチル（対照） Ethyl ester of oleic acid (control)	1.4440	82.70	184.25	—
原高度不飽和酸エチル Original ethyl ester of highly unsaturated acids	1.4846	348.79	158.14	11
同 重合物 Polymerized ester of above acids (120°, 6 hrs. in CO_2)	1.4854	310.62	156.23	62

B **動物試験法** 白鼠を用い大略第8報と同一方法により試験を行つた。即ち体重 70g 程度の白鼠に下記組成の基本飼料1日 9.5g を投与し，これに試料エステルを自仂酸化物は 0.5g，各区分は自仂酸化物中に含まれる量に応じ 0.2—0.4g 添加し，体重を測るとともに白鼠の状態を観察した。なお吉田[14]は高度不飽和酸の毒性は多量の酵母を与えることにより消失すると述べているところから，試験の確実を期するため，酵母を与えることは止め，各種ビタミン類の結晶を混合投与したが，とくにフラビンについては白鼠の最低必要量程度を投与することに留意した。

Table 4. 基本飼料組成

Composition of diets

Ingredients	Amount %	Ingredients	Amount (mg/100gm diets)
Polished rice powder	83	Vitamin A	80 U.S.P.U
		Tocopherol	3
		Thiamine	0.125
Casein (Ether extracted)	10	Riboflavin	0.1
		Pyridoxine	0.1
		Pantothenic acid	1
McCollum Salts mixture	3	Niacin	1.5
		Choline	100
		Inositol	200
Sample lipids	2～5	p-Aminobenzoic acid	0.5
		Vitamin B_{12}	0.0015

C **動物試験結果：**

Exp 7. アマニ油液体酸自仂酸化物及び各区分を投与した結果は Table 5 の如くである。なお試料は少量なため Tween 85 の 5％溶液に溶解せしめたものを用いた。

Table 5. アマニ油液体酸自伪酸物投与試験結果

Feeding records of autoxidized esters of linseed oil

(Period: From March 16 to April 5, 1954)

Type of fat fed	系統 Brood series	性別 Sex	体重 Body weight(g) 試験開始時 Initial	死亡又は終了時 Last day	生存日数 State of mortality
アマニ油液体酸自伪酸化物 Autoxidized esters of linseed oil 6.5g	C	♀	49	40	死亡 died on 4th day
	C	♀	41	30	死亡 died on 3rd day
	A	♀	39	44	死亡 died on 3rd day
	A	♂	38	37	死亡 died on 7th day
第1区分 Fraction 1 0.4g	C	♀	46	56	生存 survived over 20 days
	C	♀	48	64	生存 survived over 20 days
	A	♂	51	79	生存 survived over 20 days
第2区分 Fraction 2 0.2g	C	♀	46	45	死亡 died on 2nd day
	C	♀	39	39	死亡 died on 2nd day
	A	♂	53	53	死亡 died on 2nd day
第3区分 Fraction 1 0.2g	C	♀	48	48	死亡 died on 2nd day
	C	♀	46	46	死亡 died on 2nd day
	A	♀	48	43	死亡 died on 6th day
	A	♂	52	52	死亡 died on 2nd day

本結果を見るにアマニ油液体酸自伪酸化物は高度不飽和酸の時と同様の毒性を示し，白鼠は何れも斃死した。一方酸化物中 75 %を占める未変化液体酸(Fr. 2)は全く毒性を示さなかつた。また尿素附加物を作らぬ Fr 2,3 は1日1匹当り 0.2g の投与により何れも烈しい下痢症状を呈し，白鼠は6日以内に死亡した。

Exp. 2. 高度不飽和酸エチル重合物投与試験： 不飽和酸自伪酸化生成物中の重合体の毒性の有無を調べるため前記重合エチル・エステルを用いて試験を行い Table 6 の如き結果を得た。

Table 6. 高度不飽和酸重合エステルの動物試験結果

Feeding record of polymerized ester of highly unsaturated acids

(Period: April 16 to May 1, 1954)

Type of fat fed	性別 Sex	15日間の増加体重 Body weight gained in 15 days(g)	同平均 Mean weight gained(g)
無添加 (対照) None(Fat-free basal)	♀	8	8
	♀	8	
オレイン酸エチル (対照) Ethyl ester of oleic acid(control)0.5g	♀	16	13
	♀	10	
原高度不飽和酸エチル Original ethyl ester of highly unsaturated acid 0.5g	♀	19	17.5
	♂	17	
	♀	16	
	♀	18	
同重合エステル Polymerized ester of above acids 0.5 g	♀	20	18.7
	♀	17	
	♀	19	

本結果を見るに従来の試験で毒性を示した自伪酸化物と同程度まで沃素価を下げた高度不飽和酸エチル重合体はいささかも毒性を示さぬことを認めた。即ち本結果により多少分子量が増しても，過酸化物含量の少い不飽和酸は毒性を示さぬことを知つた。

さらに桐油を用い共軛酸の呈する毒性の程度を調べたが，アマニ油不飽和酸自伪酸化物中に含まれる程度では問題とするに足らぬことを知つた。

Exp 3. 以上の結果からして，不飽和酸自体酸化生成物中最も毒性の強い構造は過酸化物構造であろうと推定した。この推定を確認するためアマニ油液体酸自体酸化物を過酸化物価定量と同一方法により処理し，果して毒性が消失するか否かを調べた。

即ち，アマニ油液体酸自体酸化物にクロロフォルム・氷醋（1：2）混液 20 倍量を加え，供試エステルと同量の沃度カリを投入し，CO_2 ガス中で加温し，遊離沃度を除き，残存する沃度をチオ硫酸ソーダ液で除去した後十分水洗し，減圧のもとにクロロフォルムを除去した。得たる試料の性状及び動物試験の結果は Table 7，8 の如くである。

Table 7. 過酸化物を除いたアマニ油液体酸自動酸化物の性状

Properties of peroxide liberated esters of linseed oil

	沃素価 Iodine Value	鹸化価 Sap. Value	過酸化物価 Peroxide Value (M.E./Kg)
原アマニ油液体酸自体酸化物 Original autoxidized liquid ester of linseed oil	137.45	184.85	820
同過酸化物を除いたもの Peroxide liberated products of above acids	136.28	—	90

Table 8. 動物試験結果

Feeding records of peroxide liberated ester

(Period : March 23 to April 15, 1954)

Type of fat fed	性別 Sex	体重 Body weight 試験開始時 Initial	死亡又は終了時 Last day	生存日数 State of mortality
原アマニ油液体酸自体酸化物 Autoxidized liquid ester of linseed oil 0.5g	♀	50	50	死亡 died on 2nd day
	♂	61	61	死亡 died on 3rd day
	♀	89	94	死亡 died on 11th day
同過酸化物を除いたもの Peroxide liberated products of above acids 0.5g	♂	53	55	生存 survived over 3 weeks
	♀	50	50	生存 survived over 3 weeks
	♀	91	100	生存 survived over 3 weeks

本結果を見るに過酸化物を除いたものの毒性は全く薄れ白鼠は死亡しない。即ち不飽和酸自体酸化生成物中過酸化物が最も強い毒性を示すことが判る。但し白鼠はいくぶん下痢をおこしやすく，過酸化物以外に多少有毒なものが生成されるらしいことを示している。

次に過酸化物が如何なる作用機構により白鼠に毒性を与えるかを知るため，まず予備的手段として，白鼠の胃中における H_2O_2 生成量の測定を人工的に行ってみた。即ち過酸化物は酸の存在においては H_2O_2 を生ずることが知られているが，白鼠の胃中に達した過酸化物が胃液と混じて H_2O_2 を生成し，これが胃壁や腸管を直接犯すのではないかと思ったためである。そこでアマニ油自体酸化物に 0.72% HCl を 10 倍量加え時々振盪しつゝ 40°C の恒温器に 2.5 時間保ち，生成する H_2O_2 量を測定し Table 9 の如き結果を得た。

Table 9. 0.72%HCl を添加した自体酸化物よりの H_2O_2 生成量

Amount of H_2O_2 produced from autoxidized ester of linseed oil when 0.72% HCl was added

	試料 0.5g よりの H_2O_2 生成量 H_2O_2 mg. yielded from autoxidized esters 0.5g	過酸化物価 Peroxide Value (M.E./Kg) after treating
原アマニ油液体酸自体酸化物 Original autoxidized esters of linseed oil	—	1310
I 同0.72%HClを加えたもの（添加直後）The mixture of above esters and 0.72% HCl (O hr.)	0.48	—
II 同 40°C 2.5 時間放置後 The mixture of above esters and 0.72% HCl (after 40°, 2.5hrs)	0.427	1180

本結果がこのまゝ白鼠の胃中の反応に当てはめられるものとすれば，H_2O_2 の生成量はごく僅かで，大部分の過酸化物はそのまゝの形で残存するといえる。また白鼠にこの 10 倍量のオキシドールを連続投与してもなんら毒性は現れなかつた。

Ⅲ 考　　察

以上の結果より考察するに，白鼠を死亡せしめる不飽和酸自働酸化物の毒性は主として酸化生成物のうち過酸化物によると確認された。但し過酸化物が白鼠に対し如何なる作用を及ぼして毒性が現れるのかは今のところ全く不明なのだが，恐らくは次のどれかが毒性を示すのではないかと考える。即ち

（1） 過酸化物がそのまゝの形で直接胃又は腸壁に作用し組織をおかす。

（2） 消化管を通じ体組織内に入つた過酸化物が直接害作用を与えるか，あるいは過酸化物がさらに分解し，この分解生成物が毒性を示す。

以上の点については今後試験をつゞけ，はつきりした結果を得たいと考えている。

Ⅳ 摘　　要

本研究の第8報において従来信じられていた高度不飽和酸の毒性は，実は高度不飽和酸自働酸化生成物であることを見出したが，不飽和酸酸化生成物中如何なる構造を有するものが最も強い毒性を示すかを知るためアマニ油液体酸を用いて検討し，次の結果を得た。

（1） アマニ油液体酸エチルを自働酸化せしめたものは高度不飽和酸自働酸化物と全く同様の毒性を白鼠に対して示す。即ち不飽和酸は何れも自働酸化が進めば，酸化のある段階においては有毒物を生ずるように思われる。

（2） アマニ油液体酸自働酸化物に含まれる有毒成分の本態を突きとめるため尿素法を用いて酸化生成物の分離を行つたところ，尿素附加物を作らぬ部分に有毒成分は濃縮された。

（3） 高度不飽和酸を加熱重合させたものは過酸化物価低く，動物試験の結果，毒性を有さぬことを認めた。

（4） 以上の結果を検討し，結局不飽和酸自働酸化生成物中最も有毒な構造は過酸化物構造であろうと推定した。この予想を証明するため自働酸化物をクロロフォルム・氷酢混液に溶し，沃度カリを加えて過酸化物構造の大部分を消失せしめた後動物試験を行つたところ果して毒性はほとんどなくなつた。この結果により不飽和自働酸化物中最も有毒な構造は過酸化物構造であることを確認した。

本研究を行うにあたり有益な御助言を賜つた食糧研究所所長尾崎準一博士，終始御指導を賜つた東秀雄博士，動物試験に尽力された荒井君枝の諸氏に厚く謝意を表する。

文　　献

1) 金田，石井，日水誌 **19**，171 (1953).
2) O.S. Privett et al., J. Am. Oil Chem. Soc. **30**, 17 (1953).
3) S.S. Chang and F.A. Kummerow, J. Am. Oil Chem. Soc. **30**. 403 (1953)
4) K T. Zilch, Anal. Chem. **23**, 775 (1951).
5) J. Fugger et al., J. Am. Oil Chem. Soc. **28**, 285 (1951).
6) J.A. Cannon, J. Am. Oil Chem. Soc. **29**, 452 (1952).
7) D. Atherton and T. P. Hilditch, J. Chem. Soc. p105 (1944).
8) G.N. Catravas et al., Bull. mens. inform. ITERG **6**, 384 (1952) Oleagineux **8**, 79 (1953).
9) J.E. Coleman et al., J. Am. Chem. Soc. **74**, 4886 (1952).
10) Daniel Swern et al., J. Am. Chem Soc. **75**, 3135 (1953).
11) C.H. Lea, Rancidity in Edible Fats (1939).
12) P. Dubouloz. J. Fondarai nd C. Lagarde, Biochem. et Biophys. **3**, 371 (1949).
13) 松尾，未発表
14) 吉田；農化，**13**，120 (昭 12).

脂質の栄養價に関する研究—XII.
高度不飽和酸の栄養價及び毒性について (3)

金田尚志・酒井寿恵・石井清之助
(東海区水産研究所)

日本水産学会誌
第二十巻 第七号 別刷
昭和二十九年十一月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 7, November. 1954

脂質の榮養價に関する研究—XII. 高度不飽和酸の榮養價及び毒性について (3)

金田尚志・酒井寿惠・石井清之助
(東海区水産研究所)

Studies on the Nutritive Value of Lipides—XII Nutritive Value or Toxicity of highly unsaturated Fatty Acids (3)

Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII

In the previous paper* we have established that the genuine highly unsaturated fatty acids show nutritive effects upon the growth of rats, and that long-believed toxicity of highly unsaturated acids is not produced by the acids themselves but actually by formation of autoxidized matters. Moreover, it has been observed that the autoxidized liquid acids of linseed oil cause the same toxicity to the rats, and the toxic effect which is produced by peroxide structure under influence of atmospheric oxygen. When the peroxide was liberated from the autoxidized acids by potassium iodide, the acids became "not-toxic".

From these results we assumed that the peroxide liberated products of autoxidized highly unsaturated acids might become as not-toxic as in case of liquid acids of linseed oil. In order to prove this assumption, the authors liberated the peroxide of autoxidized highly unsaturated acids by Lea's peroxide-determination method as reported previously. In consequence, just as we had expected, peroxide liberated highly unsaturated acids became "not-toxic", and showed nutritive effects upon the growth of rats (Tables 1—2).

Other details obtained from the present assay may be summarized like this.

(1) As shown in Table 3, the lethal dose of peroxide to mice is 278 mg. total peroxide oxygen per Kg. (LD_{50}).

(2) The peroxide was found from liver and meat oil of rats when the autoxidized unsaturated acids were fed, and if the fed fat contained many quantity of peroxide, the peroxide value would became higher than that of control oils (Table 4).

(3) The number of mitochondria separated from rats' liver is decreased when autoxidized fatty acids are added to the mitochondria solution *in vitro* (Fig. 1).

On the basis of these findings, it was concluded that the toxicity of peroxide contained in autoxidized unsaturated fatty acids was produced in the result of injuring the tissues of rats or by destruction of the enzymes in their bodies.

* Bull. Jap. Soc. Sci. Fisheries **19**, 171 (1953), **20**, 50 (1954)

I. 緒　　言

筆者等は本研究の第8報[1]において，新鮮な魚体内に存在すると同様な状態にある未変化高度不飽和酸は

1945年11月15日受理 東海区水産研究所業績B第180号（印刷費負担）

決して毒性を示さぬばかりでなく，かなりの栄養価を有することを認めた。また従来信じられていた高度不飽和酸毒とは高度不飽和酸そのものではなく，実は高度不飽和酸の自仂酸化生成物であることもあわせて報告した。この結果は二重結合数の多い高度不飽和酸ばかりとはかぎらず，リノール酸とかリノレイン酸のような二重結合数がより少いものでも同様と思いアマニ油液体酸の自仂酸化物について試験し，全く同一の結果をえた。さらに筆者等はアマニ油液体酸エチルの自仂酸化物より，酸化生成物を分別し，そのおのおのについて毒性の程度を動物試験により検討した結果，自仂酸化生成物中もつとも毒性の強いものは過酸化物構造であることを突きとめた[2)]。

この結果は高度不飽和酸自仂酸化物についても，あてはまるだろうと考え，前報同様，高度不飽和酸自仂酸化物に沃度カリ及び氷酢，クロロフォルム混液を加え，過酸化物を除いたものをつくり，これを白鼠に与えてみた。その結果，極めて強い毒性を示していた高度不飽和酸自仂酸化物の毒性は全く弱められることを認めた。

以上の結果からして，従来信じられていた高度不飽和酸毒とは高度不飽和酸そのものに起因するのではなく，高度不飽和酸自仂酸化物中に生じた過酸化物によることが確認された。また不飽和酸自仂酸化物中に生ずる過酸化物のマウスに対する致死量（LD_{50}）を求めたところ，マウス 1kg に対し，Total peroxide oxygen として大略 278mg 程度で供試マウスの半数を死亡せしめることを知つた。

ところで残された問題は不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物がどのような作用機構により白鼠に毒性を与えるかということである。

この問題を探究する一つの手段として東大医学部病理学教室斎藤，宇敷両氏に依頼し，自仂酸化物を与えて斃死寸前となつた白鼠をつかい，その内臓各部組織につき病理学的検討を行つてもらつた。その結果同氏等の所見によれば，腎臓は髄質と皮質との境界部附近で細尿管が高度に拡張し，また小腸の粘膜に細胞浸潤が認められた。

一方筆者等も毒性発生原因となりそうなコースをいくつか予想して試験を行つてみた。

即ちまず，白鼠肝臓中のカタラーゼ作用力を検討してみた。というのは，カタラーゼは通常組織中に代謝生産物として生成する過酸化水素を水と酸素とに分解する作用を行つているが，多量の過酸化水素の存在においては逆にカタラーゼが分解される恐れがある。事実放射能症においても，組織中に多量の過酸化水素を生じ，これが白血球減少の原因となるのではないかともいわれている。また Dubouloz[3)] 等によれば白鼠に過酸化物を含む油脂を経口投与した場合 1.5 時間後に過酸化物の半量が消化管中に見出されている。また吾々も肝臓及び筋肉油にかなりの過酸化物が蓄積されることを認めた。そこで筆者等は体内に入つた過酸化物が直接あるいは二次的に過酸化水素を生じ，これがカタラーゼ作用力を低下させるのではないかと思つた。

この予想を証明するため不飽和酸自仂酸化物を与えて斃死寸前となつたマウスを屠殺し，肝臓中のカタラーゼ作用力を調べてみた。ところが予想に反し，対照として用いた正常マウスとあまり大なる差異は認められなかつた。

そこで肝臓中のミトコンドリアについて調べてみた。即ち肝臓組織中のミトコンドリアは Tricarboxylic acid cycle の酵素系が結合しているとされ，脂肪酸が T. C. A. cycle を径て水と炭酸ガスにまで完全酸化されることは H.A. Krebs 等をはじめ多くの人々により確認されている。ところが，この cycle 上に過酸化物をふくむ脂肪酸が存在する場合 cycle を完結し得ない恐れもあると考えられる。

そこでミトコンドリアに対する過酸化物の影響を見るため，白鼠肝臓より蔗糖溶液を用いて遠沈法によりミトコンドリアを分離し，これに不飽和酸自仂酸化物を少量滴下し，よく振盪したのちヤーヌスグリーンBをつかつて生体染色を行つてみた。

筆者等は本操作によりミトコンドリアが変形するのではないかと予想したのだが，実際に検鏡するとミトコンドリアは変形しないが，いちぢるしく数が少くなつた。一方自仂酸化物より過酸化物を除いたものは原

液にくらべ，いくぶんミトコンドリア数を減じる傾向にはあつたが，酸化物を添加したものよりもはるかに多数のミトコンドリアが残存した。この結果より考えるに不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物の示す毒性はミトコンドリア中の酵素系を破壊することがその一因とも想像される。この予想をより正確に証明するためには Warburg 検圧計を用いて純不飽和酸及びその酸化物のミトコンドリアによる酸化程度を計ればよい訳だが，装置がないために目下のところは行いえない。結局不飽和酸自仂酸化物の毒性は過酸化物が直接白鼠の消化管を犯すか，あるいは消化組織を通じて体内に吸収された過酸化物がそのまゝの形かまたは二次的に分解し，これ等のうちのどれかが組織や酵素系に作用して毒性を呈すると思われる。この問題については今後も試験を続けるつもりである。

II. 実験の部

EXP.1. 供試試料　高度不飽和酸エチル自働酸化物：第8及び 11 報において報じたと同様の方法により製した高度不飽和酸エチル・エステルをシャーレに入れ，4 mm 程度の薄層とし，30°C の恒温器中に放置し自仂酸化せしめた。

高度不飽和酸自働酸化物より過酸化物を除いたもの：上記高度不飽和酸自仂酸化物にクロロフォルム：氷醋（1：2）混液 20 倍量を加え，供試エステルと同量の沃度カリを投入し，CO_2 中で加温し，遊離沃度の大半を除き，残存する沃度をチオ硫酸ソーダ液で除去した後充分水洗いし，減圧のもとにクロロフォルムを除去した。得たる試料の性状は Table 1. の如くである。

Table 1. 高度不飽和酸自仂酸化物及び過酸化物を除いたものの性状
Properties of autoxidized highly unsaturated fatty acids and peroxide liberated products of the acids

	沃素価 I. V.	鹼化価 S. V.	過酸化物価 Peroxide V. (M. M./KG.)	共軛酸 Conjugated acids (%)		
				Diene	Triene	Tetraene
原高度不飽和酸 Ethyl esters of original highly unsaturated acids	320.57	156.79	14			
同自仂酸化物 Autoxidized esters of highly unsaturated acids	291.00	179.87	485	7.3	0	0
過酸化物を除いたもの Peroxide liberated products of above acids	301.04	170.64	33	7.25	0.43	4.63

動物試験結果：試験法は第 11 報と同様であり，得られた結果は Table 2 の如くである。

Table 2. 動物試験結果
Feeding records of peroxide liberated esters
(Period; May 24 to June 11, 1954)

Type of fat fed	系統 Brood series	性別 Sex	体重 Body weight (g.)			生存日数 State of mortality
			開始時 Initial	死亡又は終了時 Last day	18日間の増加量 Gained in 18 days	
無添加（対照） None (Fat-free basal)	A	♂	76	92	16	生存 Survived over 18 days
	B	♀	67	77	10	〃 〃 〃 〃
高度不飽和酸自仂酸化物 Autoxidized esters of highly unsaturated acids	A	♂	72	72		死亡 Died on 7 th day
	A	♀	73	70		〃 〃 4 th day
	B	♀	71	61		〃 〃 3 rd day
同過酸化物を除いたもの Peroxide liberated products of above acids	A	♂	77	96	19	生存 Survived over 18 days
	A	♀	71	84	13	〃 〃 〃
	B	♂	75	84	9	〃 〃 〃

本結果によれば高度不飽和酸エチル自仂酸化物は従来と同様に猛毒を示し，白鼠は何れも7日以内に斃死した。一方過酸化物を除いたものの毒性はうすれ，白鼠は死亡せず，しかも体重の増加がみられた。

Exp. 2. 高度不飽和酸自働酸化物中にふくまれる過酸化物のマウスに対する致死量： 高度不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物の毒性の程度を知るためマウスを使つてその致死量を定めた。即ち体重 18g のマウスに高度不飽和酸自仂酸化物を 0.15〜0.5g の範囲で径口投与し，24 時間以内に死亡する状態を観察した。

供試高度不飽和酸自仂酸化物の過酸化物価は 448 M.M./KG, 即ち試料 1kg 中 14.336g の Total peroxide oxygen をふくむ。

Table 3. 高度不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物のマウスに対する致死量
Lethal dose to mice of peroxide oxygen in autoxidized highly unsaturated fatty acids

用量 (Total peroxide oxygen mg.) Total peroxide oxygen in samples fed to mice (mg.)	1.79	3.58	5.017	7.16
死亡率 Mortality	0/12	2/12	6/12	10/12

(対照として6匹のマウスに純高度不飽和酸エチル 0.5g を投与したがいずれも生存した。)

本結果は 7.16mg の Total peroxide oxygen を与えたものでも2匹生き残つてしまつたため正確な致死量を求め得ない。しかしかりに 5.017mg をとつて LD_{50}*を求めてみると LD_{50}=278 mg. Total peroxide oxygen/kg. となる。この値を過酸化ベンゾイルの致死量[4]とくらべてみると，もしも過酸化ベンゾイルの示す毒性がその過酸化物構造のみに由来するものとすれば LD_{50}=521mg. peroxide oxygen/Kg. となり，高度不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物の方が倍近くも有毒ということになる。

Exp 3. 不飽和酸自働酸化物を投与した白鼠の肝臓及び筋肉中の過酸化物量： 不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物が示す毒性の本態を突きとめる一手段として，肝油及び筋肉油中の過酸化物量を測定した。即ち高度不飽和酸エチル及びアマニ油液体酸エチルの自仂酸化物をそれぞれ 0.5g 白鼠に投与し，斃死寸前となつた時これを屠殺し，ただちに肝臓及び筋肉を脱水芒硝と混和し，エーテル抽出により粗脂肪を分ち過酸化物量を定量した。その結果は Table 4. の如くである。

Table 4. 不飽和酸自仂酸化物を投与した白鼠の肝油及び筋肉油中の過酸化物量
Peroxide value of oils separated from liver and meat of rats fed with autoxidized unsaturated fatty acids

Type of sample oil	供試油の過酸化物価 Peroxide value of sample oil (M.M./KG.)	過酸化物価 Peroxide value (M.M./KG.) 肝油 Liver oil	 筋肉油 Meat oil
無添加 None (Fat-free basal)	—		3
オレイン酸エチル (対照) Ethyl ester of oleic acid (control)	0		2
原高度不飽和酸エチル Original ester of highly unsaturated acids	40		14
同自仂酸化物 Autoxidized product of above acids	1405		37
アマニ油液体酸エチル軽度酸化物 Slightly autoxidized ester of liquid acids of linseed oil	409	20	
アマニ油液体酸エチル自仂酸化物 Autoxidized ester of liquid acids of linseed oil	3170	89	

* LD_{50}=50% 致死量

本結果によれば，基本飼料のみで飼育したもの及び純オレイン酸エチルを投与したものは，過酸化物価が低かったが，高度不飽和酸及びアマニ油液体酸自仂酸化物投与群は試料の過酸化物価が高くなるにつれ，投与鼠の肝油及び筋肉油の過酸化物価も高くなることが認められた。

Exp 4.　高度不飽和酸自働酸化物を投与し斃死寸前となつたマウスの肝臓のカタラーゼ作用力：Exp 1に使用した高度不飽和酸自仂酸化物を 18～20g のマウスに1匹当り 0.5g 投与し斃死寸前となつたものを屠殺，Euler，Josephson 法の白川改良法[5]を用いて Kat. f. を求めたところ Table 5 の如き結果を得た。

Table 5.　マウス肝臓カタラーゼの比作用力

Kat. f. of mice liver

Type of fat fed	Kat. f.
高度不飽和酸エチル自仂酸化物 Autoxidized highly unsaturated acids	238.4 233.0
無　添　加（対　照） None (Fat-free basal)	257.1 230.2 227.9

本結果を見るに対照として用いた無添加健康マウスと供試群との間にはカタラーゼについてはとくに差異が認められなかつた。

Exp 5.　白鼠肝臓より分離したミトコンドリアに対する高度不飽和酸自働酸化物の影響：1日絶食せしめてグリコーゲンを減少させた白鼠の肝臓（6g）に 54c.c. の 0.25M 蔗糖溶液を加えホモゲナイズした後遠沈法[6]によりミトコンドリアを分離した。本液 25c.c. をとり，これに高度不飽和酸自仂酸化物エチル・エステル（過酸化物価 530）1滴を加えよく振盪しヤーヌスグリーンB 1/15000 溶液を用いて超生体染色を行い検鏡した。また残りのミトコンドリア蔗糖溶液に Lea の方法により前記酸化物から過酸化物を除いたもの1滴を加え，同様処理した。その結果は Fig. 1 に示す如く，過酸化物をふくむものはかなりミトコンドリアの数が少くなることを認めた。一方過酸化物を除いたものはそれほど減らず，さかんにブラウン運動を行つているのが認められた。

なお高度不飽和酸酸化物を投与した白鼠の内臓各部組織は Fig. 2 の如くである。

Ⅲ. 考　　察

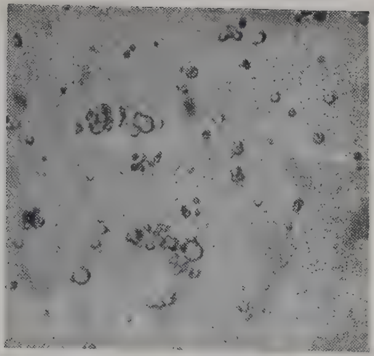
以上の結果から考察するに，第 11 報に報じたアマニ油液体酸の場合と同様高度不飽和酸自仂酸化物中に生ずるもつとも有毒な成分は過酸化物であることがわかる。即ち，本結果及び 11 報の結果をもとにして考えると，不飽和酸の自仂酸化物は何れも過酸化物を含むような酸化の段階において有毒である。この過酸化物が白鼠に与える害作用は消化器をはじめその他内臓器管に直接作用する面と，体内に吸収された過酸化物がそのまゝの形かあるいは二次的に分解した形で酵素系に仂き，その作用を停止せしめるのではないかと思われる。即ち，本研究の第8報で報じたごとく不飽和酸自仂酸化物が附着した白鼠の顔面，四肢等の毛は脱毛し，さらに肛門のまわりは炎症を起し，不飽和酸自仂酸化物に接した組織は犯されている。また Exp. 3 で認めたごとく過酸化物はそのまゝの形でかなり肝臓及び筋肉にまでも蓄積される。この過酸化物が肝臓中のミトコンドリアを減少させたように各種の酵素系に仂き，酵素作用を減退あるいは停止せしめることは当然予想される。

Ⅳ. 摘　　要

高度不飽和酸自仂酸化物の示す毒性の本態を追及し，次の結果を得た。

（1）　第 11 報に報じたアマニ油液体酸自仂酸化物の示す毒性同様，高度不飽和酸自仂酸化物の毒性は主として酸化物中に生成した過酸化物に由来することを確認した。

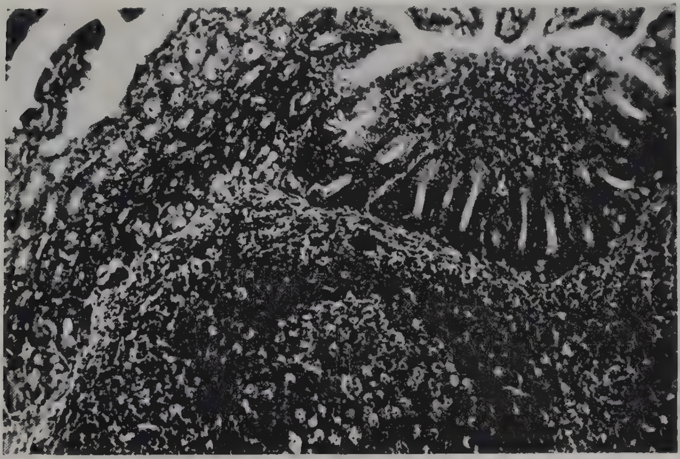
I　高度不飽和酸自働酸化物を添加した肝臓ミトコンドリア



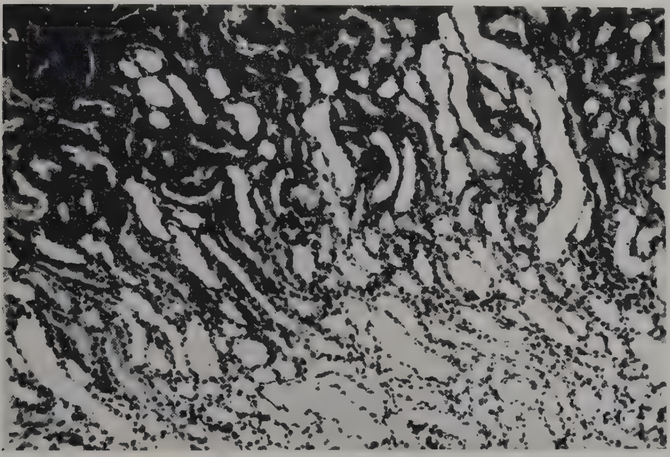
II　高度不飽和酸自働酸化物より過酸化物を除いたものを添加した場合

Fig. 1. Photographs show the mitochondria of rats' liver treated with Janus green B : autoxidized highly unsaturated fatty acids were added for I, the peroxide liberated products of the acids were added for II. (× 400)

（いづれもヘマトキシリン・エオシン染色）



I　高度不飽和酸自働酸化物を投与し斃死寸前となつた白鼠の小腸



II 同　　腎臓

Fig. 2. Photographs show the tissues of rats in which the retarding action is produced by autoxidized highly unsaturated acids : small intestine for I, kidney for II. (× 80)

（2） この過酸化物のマウスに対する致死量は大略 278 mg. Total peroxide oxygen/Kg.（LD_{50}）である。
（3） 白鼠に径口投与した不飽和酸エチル自仂酸化物中の過酸化物は，かなり肝臓及び筋肉中に見出される。
（4） 白鼠肝臓より分離したミトコンドリアに高度不飽和酸自仂酸化物を少量加えると，ミトコンドリアは急激に減少する。
（5） 東大病理学教室斎藤，宇敷両氏の所見によれば高度不飽和酸を投与して斃死寸前となつた白鼠の腎臓の細尿管は拡張し，小腸の粘膜には細胞浸潤が認められた。
（6） 以上の結果からして，高度不飽和酸自仂酸化物中の過酸化物の示す毒性は，直接体組織を犯すと共に酵素系をも破壊するように思われる。

本研究を行うにあたり，有益な御助言を賜つた食糧研究所長尾崎準一博士，終始御指導を賜つた東秀雄博士，白鼠内臓組織を検討していただいた東大病理学教室斎藤守，宇敷真の両氏，動物試験に尽力された荒井君枝氏に厚く謝意を表する。

文　献

（1） 金田，石井； 日水会誌 **19**，171（1954）
（2） 金田，桜井，石井： 日水会誌 **20**，50（1954）
（3） P. Dubouloz，J. Fondarai and C. Lagarde： Biochem. et Biophys. Acta **3**，371（1949）
（4） 大森，岡： 薬物致死量集 P 211（1953）
（5） 白川： 農化 **24**，125（1951）**25**，166（1951）
（6） W. C. Schneider： J. Biol. Chem. **176**，259（1948）

干物油の栄養價及び毒性について

金田尚志・酒井壽惠・石井清之助
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻 第七号 別刷
昭和二十九年十一月二十五日發行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 7, November. 1954

干物油の榮養價及び毒性について

金田尙志・酒井壽惠・石井清之助
（東海区水産研究所）

Nutritive Value or Toxicity of Oils of Salted and Dried Fishes

Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII

Sardine, mackerel, saury and similar kinds of fish are processed into salted and dried forms, a favorite item of Japanese diet. However, little attention has been paid to the nutritive value of protein or lipids which are contained in these products. While the nutritive value of proteins of the dried meat is not supposed to decrease in the result of processing or storage, the oils of dried fishes are rapidly autoxidized by the atmospheric oxygen.

Therefore, an attempt has been made to examine the nutritive value of oil of salted-dried fishes by animal feeding, from which the following has been found.

(1) As shown in Fig. 2, the oil extracted from salted-dried saury (Peroxide Value 65) indicated the toxic effects upon the growth of rat. However, the oil extracted from saury treated with butylated hydroxyanisol (B. H. A.) brought no retarding action to the rats.

(2) The oil of salted-dried herring (Peroxide Value 14) had the good effects on the animal regardless whether or not it was treated with B. H. A. (Table 4).

(3) The nutritive value of oil of dried mackerel (Peroxide Value 24) was slightly lower than that of B. H. A. treated oil (Table 5).

With these findings in mind, it has been concluded that the nutritive value of oils of salted-dried fishes is influenced by degree of autoxidation, and if the original oil shows a high iodine number, the nutritive value becomes lower. However, when the antioxidant is applied to the material fish, the nutritive value remains as good as that of the original oil.

1. 緒　　言

吾々は日常さかんに干物を食べているが，この干物の栄養価については今まであまり報告されていない。もつとも干物の栄養価といつても，その主とするところは蛋白質であり，干物の蛋白質は生鮮魚肉にくらべ変性を起していても，とくに栄養価が低下しているともいえない。ところが干物にふくまれる油の方は新鮮な魚体にふくまれる油とはかなりちがつている。

そこで筆者等は各種の魚を使つて干物をつくり，これから油を分けて，その栄養価を調べてみた。その結果，不飽和度の高い油をふくむサンマ干物油の場合は白鼠に対しかなりの毒性を示し，供試鼠のうちには斃死するものさえもあらわれた。

筆者等は既に不飽和酸は自働酸化により毒性を呈すること及びその毒性の本態は主として自働酸化物中に生成する過酸化物構造に起因することを確めた[1]が，サンマ干物を室温に放置し，この一部を次々ととり，油を分けてその過酸化物量を測定してみると，生干し程度の新しいものに最も多く，以後日数を経るにつれ過酸化物量は次第に減少することを認めた。

1954 年 11 月 15 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 181 号（印刷費負担）

サンマ干物油が示す毒性も主として干物製造後，含有油脂中に生成する過酸化物によると思われるが，以上の結果より考えると，生干しの油は最も強い毒性を示すことになる。もつとも，干物を焼くと過酸化物はかなり消失するから，焼く前の干物油が強い毒性を示しても，実際に食べる時はそれほど危険はないと思われる。またニシン干物油のごときは比較的沃素価低く変化をうける程度が少いため，生鮮魚体より直ちに製した油にくらべ,それほど栄養価が低くならなかつた。なお,干物油の酸敗を防ぐため Butylated hydroxyanisol (B. H. A.) を添加した干物も同時に作り，この栄養価を測定したところ，B. H. A. を添加すると，干物中の油は変敗しにくく，したがつて，サンマの場合でも，かなりの栄養価を示すことを認めた。以上の結果からして沃素価の高い油をふくむ魚や含油量の多い魚から干物をつくる際は外見のためばかりでなく栄養価のためにも適当な防酸化剤を使用することが望ましいといえる。

II. 実験の部

A 供試油： サンマ，ニシン，サバ等を背開きとし，頭部，内臓を除き水洗後，20 % 食塩水に一夜浸漬した。また B. H. A. を食塩水に対し 0.05 % となるごとく少量のアルコールに溶かしたものを加えた。これ等試料魚を十分日乾した後1週間前後室中に放置したが，この際 B. H. A. を加えぬものにはかなりの油焼けが見られた。（写真参照）

そこでこれ等試料を細切し，まづエタノールを用いて温抽出をした後ベンゾール，アルコール混液を加えて含有油脂を分別した。なお対照油としては，生鮮魚体より直ちに煮取により分離したものを用いた。これ等供試油の一般性状は Table 1 のごとくである。（共軛酸量は Am. Oil Chem. Soc. Official and tentative method : Cd 7-48 により算出した）

Table 1. 供試油一般性状

Analysis of the samples used in the experiments

Kinds of fish	Sample oils	酸価 A.V.	鹼化価 Sap.V.	沃素価 I.N.	過酸化物価 Peroxide V. (M.M./Kg.)	共軛酸 Conjugated acids (%)		
						Diene	Triene	Tetraene
サンマ Saury	サンマ原油 Original (Separated from fresh meat)	1.6	181.4	153.0	11	0.54	0	0
	同 干物油 Salted and dried	26.1	173.9	123.0	65	2.63	0	0
	同 B.H.A. 添加油 Treated with B.H.A.	16.7	174.9	145.9	22	0.85	0	0
ニシン Herring	ニシン原油 Original	3.1	174.3	83.4	8	0.37	0	0
	同 干物油 Salted and dried	24.9	170.3	71.9	14	0.82	0	0
	同 B.H.A. 添加油 Treated with B.H.A	17.0	169.7	84.6	4	0.66	0	0
サバ Mackerel	サバ原油 Original	4.8	181.5	137.6	8	0.71	0	0
	同 干物油 Salted and dried	14.1	183.9	128.1	24	1.03	0	0
	同 B.H.A. 添加油 Treated with B.H.A.	11.9	183.9	130.9	12	0.75	0	0

B 動物試験法： 体重 70〜100g 程度の白鼠に次頁の如き組成の基本飼料1日 9g，供試油 1g を混和し（10 %添加）大略 30 日間の体重増加を見，あわせて白鼠の状態を観察した。

Table 2. 飼料組成 Ingredients of diets (%)

	基本飼料 Basal diet	試験飼料 Test diet
精製白米粉 Polished rice powder	74	74
脱脂カゼイン Casein (Ether extracted)	10	10
乾燥ビール酵母 Dried beer yeast	3	3
マ氏塩 McCollum salts mixture	3	3
供試油 Sample oils	0	10
	90	100
マグロ肝油 Liver oil of tuna (10% Et-OH soln.)	1 drop/day	

C. 動物試験結果：

EXP. 1. サンマ干物油投与試験

サンマ干物油及び煮取油等を投与した結果は Fig. 2 の如くである。

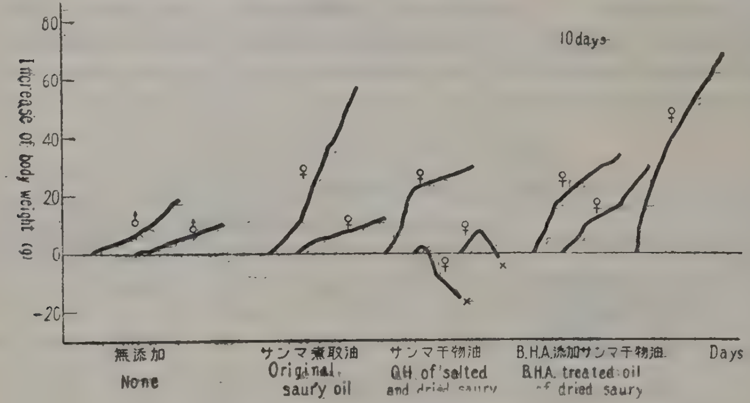


Fig. 2 サンマ干物油投与試験結果

Feeding records of saury oils.

本結果を見るにサンマ干物油は白鼠に対しかなり毒性を示し，白鼠は3匹中2匹斃死した。これにたいし煮取油及び B.H.A. 添加油はかなりの栄養価を示した。

なおサンマ干物油中に生成する過酸化物量の変化は Fig. 3 の如くで，生干し程度の時最も多く，日数を経るにつれ減少することを認めた。また干物を焼くと次表の如く過酸化物量ははじめの30〜45%に減少した。

Table 3. サンマ干物を焼いた場合の含有油過酸化物価の減少程度

Diminution-degree of peroxide value of oil in salted-dried saury by heating

	Peroxide Value (M.M./KG.)		
加熱前 Before heating	50	96	146
加熱後 Heated product	22	37	44
減少度 Rate of decrease %	44	36.9	30.5

Fig. 1. 供 試 干 物

No. 1,3——B.H.A. 添加サンマ　No. 2,4——同無添加
No. 5——B.H.A. 添加サバ　No. 6——同無添加

Photographs show the salted and dried fishes used in experiments: Salted and dried saury (antioxidant-free) for 2 and 4, B.H.A. treated saury for 1 and 3, B.H.A. treated mackerel for 5, and antioxidant-free mackerel for 6.

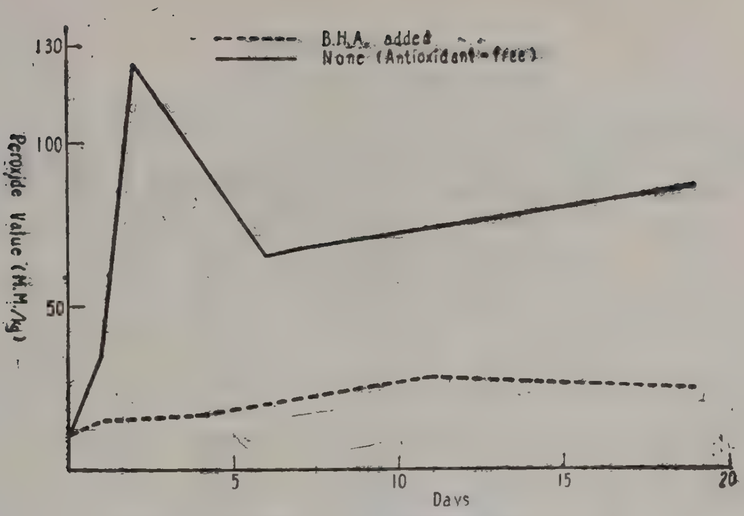


Fig. 3 サンマ干物にふくまれる油の過酸化物価の日変化

Variation of peroxide value of oil contained in salted and dried saury.

EXP. 2 ニシン干物油投与試験

Table 4. ニシン干物油投与試験結果

Feeding records of herring oils

(Period : From July 6 to August 6, 1954)

Type of fat fed	性別 Sex	体重 Body weight (g.)			体重増加量平均 Mean weight gained (g.)
		開始時 Initial	終了時 Last day	32日間の増加量 Body wt. gained in 32 days	
無添加(対照)	♀	89	122	33	36
None (Fat-free basal)	♀	109	148	39	
ニシン原油	♀	105	167	62	66
Original herring oil	♀	101	171	70	
同干物油	♀	98	160	62	65.3
Oil of salted-dried	♀	99	164	65	
herring	♀	102	171	69	
同B.H.A.添加油	♀	94	171	77	69.6
B.H.A. treated oil of	♀	98	170	72	
above fish	♀	96	156	60	

ニシン干物油は一般特数の上からも判るように，原油にくらべ大なる変化を受けていないため動物試験の結果もひどく悪い値とならなかつた。しかし B. H. A. 添加油にくらべると多少劣るように見える。

EXP. 3 サバ干油物投与試験

サバを干物とした場合，含有油脂が変敗し栄養価を下げる程度はサンマとニシンの間ぐらいと思われる。即ちサバ干物油は白鼠を斃死せしめるほどの毒性は示さないが，原油及び B. H. A. 添加油にくらべる

Table 5. サバ干物油投与試験結果

Feeding records of mackerel oils

(Period : September 16 to October 16, 1954)

Type of fat fed	性別 Sex	体重 Body weight (g.) 開始時 Initial	終了時 Last day	30日間の増加量 Body wt. gained in 30 days	体重増加量平均 Mean weight gained (g.)
無添加（対照） None (Fat-free baral)	♀	74	101	27	22.7
	♀	74	99	25	
	♀	74	98	24	
	♂	107	122	15	
サバ原油 Original mackerel oil	♀	77	117	40	43.2
	♀	81	126	45	
	♀	71	112	41	
	♀	78	125	47	
同干物油 Oil of salted-dried mackerel	♀	76	111	35	36.2
	♀	79	117	38	
	♀	72	106	34	
	♀	83	121	38	
同 B.H.A. 添加油 B.H.A. treated oil of above fish	♀	77	122	45	40.8
	♀	78	127	49	
	♀	79	124	45	
	♀	69	100	31	
	♀	71	105	34	

とかなり劣る。

なおサバ干物油の毒性を見るため 18～20g のマウスを用い，1日1匹当り 0.5g を与えてみたところ，原油及び B.H.A. 添加油は全く斃死しなかつたが，干物油は4日以内に4匹中2匹が死亡した。この結果を見ても干物油は一段劣ることが認められる。

Ⅲ 考　　察

以上の結果よりして，干物にふくまれる油の沃素価が高い場合，その栄養価は生鮮魚体にふくまれるものにくらべかなり劣ることがわかる。これは干物製造時及び貯蔵中に干物の油が酸化しその結果生じた酸化生成物に起因するのであろう。なお筆者等は既に不飽和酸自働酸化生成物は毒性を示し，とくに過酸化物は最も有毒であることを認めているが，本試験においても過酸化物量の多いサンマ干物油が最も強い毒性を示している。

なおサンマ干物油中の過酸化物量は，生干し程度の時最も多く，日数の経過とともに減少してゆくから生干しの時一番毒性が強いといえる。ただし食用とするため焼いた干物にふくまれる油は生干しでもかなり過酸化物は少くなるから，干物からいきなり溶剤で分けた油の動物試験結果ほど毒性は呈さないと考える。また過酸化物含量の比較的少いものでも原油にくらべ劣るのは，アルデヒド，ケトン，あるいは分子間重合物等が生成し，これ等の栄養価が劣るためであろう。

昨今，塩干魚や，煮干しの油焼けの問題は熱心に追及されているが，干物にふくまれる油は油焼けを起す以前最も強い毒性を示す故，くさやの干物のごとく，かなり長時間貯蔵した後食用とするものは別として，生干しの程度で食べる干物の場合は，適当な防酸化剤を使用して，極力干物にふくまれる油が自働酸化を起さぬように留意することが，国民栄養の上から見て望ましい。

Ⅳ 摘　　要

干物にふくまれる油の栄養価及び毒性の有無を知るため白鼠を用いて試験し次の結果を得た。

（1） サンマ干物より分離した油の栄養価は生鮮魚体油及び防酸化剤 Butylated hydroxyanisol (B.H.A.) を添加したものにくらべかなり劣り，白鼠中には斃死するものを生じた。この干物油の毒性は主として含有油脂の酸化により生成した過酸化物によると思われる。

（2） 干物中の過酸化物量は生干しの時最も多く，日数を経るにつれ減少する。

（3） ただしこの過酸化物は焼くことによつて半分以下に減少する。

（4） ニシンのごとく比較的酸化しにくい油をふくむ魚の干物油は，とくに著しい毒性は示さぬが栄養価は B.H.A. を添加したものよりも劣る。

（5） サバ干物油については，サンマ及びニシンの中間に位するような値が得られ，白鼠は斃死するほどではないが，生鮮魚体より分けた油よりも劣つた。

（6） 干物製造時 B.H.A. を添加したものは油が変敗すること少く，したがつて良好な栄養価を示した。

本研究を行うにあたり，終始御指導を賜つた東秀雄博士，動物試験に尽力された荒井君枝氏，及び B.H.A.（サステン）を提供された日本揮発油株式会社に厚く謝意を表する。

文　　献

1） 金田，石井，桜井：日水会誌 19，171（1953） 20，50（1954）

Nutritive Value of Highly Unsaturated Fatty Acids and the Origin of Toxicity of Fish Oils

Takashi KANEDA, Hisae SAKAI and Seinosuke ISHII

It has been widely accepted that the highly unsaturated fatty acids in fish oils give toxic effects on the growth of rats. In oder to prove whether this is true or not, we have carried out the following experiments.

1) When the diet, containing 5 per cent of ethyl ester of highly unsaturated fatty acids kept as much as possible from autoxidation, was administered to test rats together with a small amount of vitamins, the normal growth of the rats was attained without showing retarding effects on their health. And the nutritive value of the test ester was not much lower than that of oleic acid used for the comparison.

2) The rats, which were fed with the acids obtained from the same source and autoxidized, exhibited a retarding effect upon their growth with the decrease in weight and the depilation around their mouths, legs and anuses. They all died in the later course of the test.

3) Moreover, it has been observed that the autoxidized liquid acids of linseed oil cause the same toxicity to the rats.

4) So we fractionated the autoxidized products of linseed oil by urea adduct formation and the nutritive or retarding effects of each fractions are examined.

5) The 1st fraction separated from the autoxidized products (consisting mainly of un-autoxidized esters) does not give any retarding actions to the rats. However, the 2nd and 3rd fractions which do not form urea adducts show the toxic effects on the animals. From these results it is apparent that aldehydes have no harmful effect upon the rats.

6) On the other hand, polymerized higly unsaturated fatty acids which contain a small proportion of peroxide show the nutritive effects to the rats and no retarding effect are noticed.

7) Judging from these results, the toxic effects which yield from the autoxidized acids should certainly be attributable mainly to production of peroxide-structure.

8) In order to prove this assumption, we liberated the peroxide of autoxidized highly unsaturated acids or liquid acids of linseed oil by Leás peroxide-determination method. In consequence, peroxide liberated products became not-toxic. On the basis of this result we have come to a conclusion that the most toxic structure in autoxidized unsaturated fatty acids is peroxide which has been produced at the biginning of autoxidation.

9) The lethal does of peroxide to mice is 278 mg. total peroxide oxygen per kg. (LD_{50}). However, the toxic effects of autoxidized oleic acids was slightly lower than that of highly unsaturated acids.

10) The peroxide was found from the liver and meat oil of rats when the autoxidized unsaturated acids were fed, and if the fed fat contained many quantities of peroxide, the peroxide value would become higher than that of control oils.

11) The number of mitochondria separated from the rat livers is decreased when autoxidized fatty acids are added to the mitochondria solution *in vitro*.

On the basis of these findings, it was concluded that the toxicity of peroxide contained in autoxidized unsaturated fatty acids was produced in the result of injuring the tissues of rats or by destruction of the enzyme systems in their bodies.

高度不飽和酸の榮養價といわゆる魚油毒の本態

Nutritive Value of highly unsaturated Fatty Acids and the Origin of Toxicity of Fish Oils

金田尚志　　酒井壽惠　　石井清之助
(Takashi Kaneda)　　(Hisae Sakai)　　(Seinosuke Ishii)

I. 緒　　言

從來の報告によれば，魚油中に含まれる高度不飽和酸は有毒とされていた[1)2)]。この結果は廣く一般に信じこまれ，魚油の榮養價が劣るのは，主として魚油中に含まれる高度不飽和酸のためとされた。

ところで，われわれは日常高度不飽和酸をふくむ魚類をさかんに食べているが，高度不飽和酸に起因する害作用をうけたという話をきいたことがない。

そこで，筆者等は新鮮な魚體内に存在するような高度不飽和酸は何ら毒性を示さず，魚體より分離した魚油中の高度不飽和酸が変化してはじめて有毒となるのであろうと豫想した。即ち高度不飽和酸は空氣中ですみやかに酸化される故，從來の報告は純粹な高度不飽和酸について動物試驗を行つているつもりが，實は，自働酸化生成物の試驗を行つてしまつたのではないかと考えた。實際，筆者等は高度不飽和酸を褐色瓶に貯藏し，開栓のたびに炭酸ガスを注入し，極力酸化を防止した場合でも，かなり酸化が進むことをすでに認めている。

そこで純粹な高度不飽和酸は決して毒性を示さぬという豫想を證明するため，イワシ油よりソーダ鹽アセトン法を用いて分離した高度不飽和酸をエチルエステルとし石油エーテルに溶し，アルミナを用いてクロマトグラフを行い，出來るかぎり純品を作つた。この高度不飽和酸は製造時に一部自働酸化をうけて共軛酸及び過酸化物等を生ずるが，これ等は殆んどクロマトにより除き得るのでかなり純粹と思われるものだけである。またこのことは紫外部の吸収を調べた結果からも證明できる。

本試料をドライアイスを詰めた魔法瓶中に貯藏しつつ白鼠に與えてみると，白鼠は全くいやがらずによく食下し，しかも優秀な成長度を示した。

なおこの試驗を行う際，從來の報告によれば，高度不飽和酸の毒性は多量の酵母を與えることにより消失するといわれているところから，酵母の影響をさけるため，ビタミン類はいずれも結晶を用い，とくにフラビンについては，白鼠の最低必要量とされる程度を與えた。

以上の結果から從來の報告は，純粹の高度不飽和酸ではなく，高度不飽和酸から二次的に變化したものを取扱つていたうたがいが多分に生じた。

そこで，筆者等は所謂高度不飽和酸毒は高度不飽和酸自働酸化生成物と考え，上記純高度不飽和酸を室溫に放置し，自働酸化を行わしめ，これを試料として動物試驗を行つたところ，果して本自働酸化物は極めて烈しい毒性を示し，白鼠の口邊，四肢及び肛門のまわりの毛はいちじるしく脱毛し，いずれも斃死した。この試驗の結果，從來信じられていた高度不飽和酸毒は高度不飽和酸そのものではなく，その自働酸化生成物であるらしいと思われたのだが，この結果は高度不飽和酸ばかりとはかぎらず，不飽和酸全部についていえるのではないかと考えた。つまり，不飽和酸はその二重結合數に應じて，自働酸化をうける程度に差があるが，ある程度酸化されたものは，たとえ二重結合數が高度不飽和酸より少い場合でも同樣の毒性を呈するだろうと考えた。この考え方を證明するためアマニ油より分離した液體酸のエチル・エステルを用い，高度不飽和酸同樣自働酸化せしめて動物試驗を行つたところ，豫期したごとく酸化生成物投與群は，高度不飽和酸の場合と同樣の症狀を呈し，いずれも斃死した。

そこでつぎにこれ等不飽和酸自働酸化物中に生ずる毒性の本態を突きとめようと試みた。

不飽和酸を自働酸化させる場合，酸化があまり進んでおらぬ初期の段階では不飽和酸の全部が酸化物に變るわけではなく，もとの不飽和酸が未變化のままかなり殘つている。このような輕度酸化物から自働酸化生成物を分離する方法としては，いままでにいくつかの報告があるが，最近のものを分類してあげてみると，まず Privett[3)] 等は Skellysolve F とアルコールを用いて分離を行い，Chang[4)] 等は Skellysolve F とエーテルとの混合比を變えて分離を試みている。また Atherton, Hilditch[5)] 等はシリカゲルを用いるクロマトグラフにより分離を行い，更に數年來尿素附加物による分離法が Catravas[6)], Coleman[7)], Swern[8)] 等により報告されている。この他向流分配法による分離も行われている[9)]。

そこで筆者等もこれ等の方法を用いて，アマニ油液體酸自働酸化物の分離を試みた。すなわち，まず Privett 等の行つた方法に從い，石油エーテルと 85% 酒精を用いて分離を試みた。ところが酸化生成物の大部分はアルコールに可溶となるが多少は石油エーテル可溶部にも殘る。また動物試驗により毒性の程度を調べると兩者とも，白鼠に對し有毒であつた。つまり，この方法は不飽和酸自働酸化生成物を濃縮しその性質を調べるには有効だが，筆者等の望む完全に無毒な部分の分離には役立たぬことになる。そこで Atherton, Hilditch 等の行つたシリカゲルを用いるクロマトを試みたが，シリカゲルに吸着されぬ部分にも多少有毒成分が入りこみ，不成功に終つた。ただしシリカゲルの代りにアルミナを用いると無毒部分の分離は可能となる。ところがアルミナに吸着された有毒部分を完全に溶出せしめるのは困難で，各種の溶劑を用いても完全には回收できない。しかも處理の途中で試料がさらに酸化されてしまう恐れが多分にあつた。

そこで尿素附加物による分離を試みたところ，試料の 75% は尿素附加物を作り，動物試驗の結果は全く無毒であつた。一方附加物を作らぬ部分の毒性は極めて強く，白鼠は何れも斃死した。

尿素附加物を作る無毒部分は，未變化不飽和酸及び比較的低分子の重合體，アルデヒド等を含むが過酸化物及び共軛酸量は僅かである。一方附加物を作らぬ部分はアルデヒドの存在は僅かであるが過酸化物価は高く，共軛酸を多く含み，分子量もやや大きい。この結果から，自働酸化生成物の一つであるアルデヒドはたいして毒性を示さず，毒性の本態は側鎖を有する脂肪酸，ラクトン，重合物，共軛酸，過酸化物ということになる。ところで不飽和酸が重合する場合，低溫と高溫とでは重合物の性質が異り，低溫の場合には過酸化物價は高くなるが，高溫ではあまり高くならぬことが Hilditch[5] 等によりすでに認められているし，筆者等も同様の結果を得ている。そこで高度不飽和酸を高溫で重合させ，その沃素價を有毒な低溫自働酸化物と同程度まで下げて，動物試驗を行つてみると，毒性は全く現れず，白鼠はよく成長する。この結果から過酸化物を含まぬ重合體はたとえ分子量が增しても無毒なことがわかる。また共軛二重結合を有する化合物には有毒なものが知られているが，筆者等の取扱つた不飽和酸低溫酸化物も，自働酸化の結果，6% 程度の共軛酸を生じている。これは白鼠 1 日 1 匹當り 0.03g の共軛酸を與えることになるが，試みに桐油を用い共軛酸をこの 5 倍ぐらい與えてみたが白鼠に毒性はほとんど現れない。このことから共軛構造は不飽和酸毒の主因とは考えられぬことになる。

これ等の結果から，酸化生成物中に存する毒性の本態は側鎖を有する脂肪酸かラクトン，あるいは過酸化物に歸せざるを得ない。事實尿素附加物を作らぬ部分は分子量が原脂肪酸より多少增大するにもかかわらず鹸化價は大きくなり，アルコール性苛性カリにより切られ易いような形の側鎖か，あるいはラクトンを分子中に含むように思われる。そこでこうした化合物の毒性の有無はひとまずおき，酸化生成物の毒の本態を過酸化物構造として實驗を進めてみた。即ちもしも過酸化物構造が毒性の主原因であるとすると，自働酸化生成物から過酸化物を除いたものは毒性が全くないか，あるいはごく微弱となるはずである。

そこで過酸化物定量の際と同一の方法を用い，沃度カリを酸化生成物に加えて，過酸化物構造の大部分を除き，毒性の程度を調べたところ，豫想のごとく毒性は問題とならぬほど弱まり，白鼠には多少下痢はおこすのもいるが斃死せず長く生存した。

同様の試驗を高度不飽和酸自働酸化物についても行つたが全く同様の結果が得られた。以上の結果から不飽和酸自働酸化物中最も毒性の強いものは過酸化物であることを確認した。

またこの結果より，從來信じられていた不飽和酸は二重結合數を增すにつれ榮養價が低下するという考えには相當檢討の餘地があるように思われた。つまり不飽和酸の間に見られる榮養價のちがいは實は純粹な不飽和酸そのもののちがいではなく，自働酸化をうけやすいか否かという點に起因するところもあるように考えられる。

なお筆者等は不飽和酸自働酸化物中に生ずる過酸化物のマウスに對する致死量（LD_{50}）を求めたところマウス 1kg に對し Total Peroxide Oxygen として大略 278mg 程度で供試マウスの半數を死亡せしめることを知つた。ただしオレイン酸エチル自働酸化物の場合は高度不飽和酸化物と同一量の過酸化物を投與すると烈しいセボレヤ症狀を呈するが，死にかたは少く，供試マウスの半數を死亡せしめるには高度不飽和酸化物の大約 1.5 倍量の過酸化物を必要とした。

またオレイン酸自働酸化物より尿素を用いて酸化物のみを分離したものでは，20g のマウスに，0.2g の試料（過酸化物含量 6mg）を 2 日連續投與すると 6 匹中 4 匹が死亡した。

このオレイン酸は酸化がかなり進んだ段階でも二重結合は消失せず，過酸化物價のみが增大している。即ちオレイン酸酸化物の毒性については高度不飽和酸やアマニ油液體酸酸化物と同一に論じられぬ點もあるように思える。

さて殘された問題は不飽和酸自働酸化物中の過酸化物

がどのような作用機構により白鼠に毒性を與えるかということである。この問題を探究する第1手段として，東大醫學部病理學教室齋藤，宇敷両氏にお願いし，自働酸化物を與え斃死寸前となつた白鼠をつかい，その内臓各部組織の切片をこしらえてもらつた。その結果同氏等の所見によれば，腎臓は髄質と皮質との境界部附近で細尿管が高度に擴張し，また小腸の粘膜に細胞浸潤を認められている。

また筆者等は白鼠肝臓よりサツカローズ溶液を用い遠沈法によりミトコンドリアを分離し，本溶液に高度不飽和酸自働酸化物を1滴滴下し，振盪したところ，ミトコンドリアは急速にその數を減少することを認めた。

肝臓中のミトコンドリアには Tricarboxylic acid cycle の酵素系が結合しているとされるが，もしも上記のごとき反應が生體内においても行われるものとすれば，脂肪酸の代謝は完全に行い得ないことになり，當然毒性を呈すると考えられる。

また不飽和酸自働酸化物を投與した白鼠の肝臓及び筋肉油中にはかなりの過酸化物が蓄積されることを認めた。

即ち以上の結果をまとめて考えると，脂肪酸の自働酸化物中に存在する過酸化物が直接白鼠の消化器管を犯すか，あるいは消化組織を通じ體内に吸收された過酸化物が，そのままの形か，または二次的に分解し，これ等のうちのどれかが組織や酸素系に作用して毒性を呈すると思われる。

この問題については今後も試験を續けるつもりである。

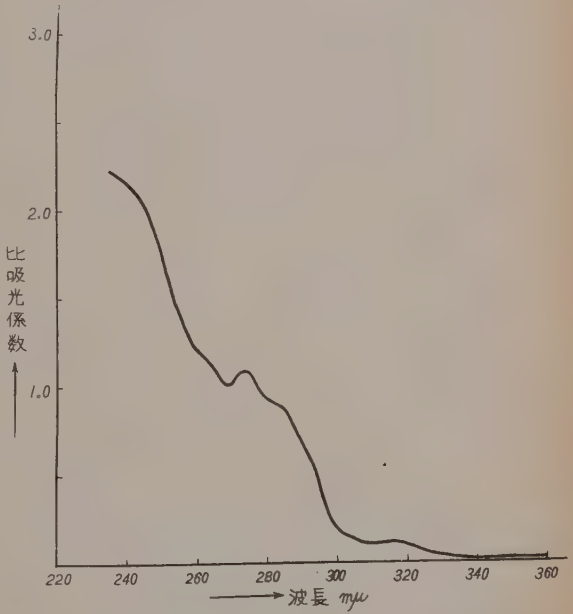
II. 實 驗 の 部

實驗 1:

A. 供試品：高度不飽和酸エチル・エステル： 從來高度不飽和酸の製法としては Bromination による方法が廣く行われているが，この方法は異性體を生成しやすく，製した高度不飽和酸が魚體内に含まれる場合とは變つてしまうので採用できない。そこでソーダ鹽アセトン法を繰返し試料を作つた。すなわち，マイワシから煮取りでイワシ油を採取したものを出發油とし，本油より常法により製じた混合脂肪酸に 10 倍量のアセトンを加え −15°C に一夜放置し，析出する固體酸を濾別し，ソーダ鹽アセトン法を2回繰返しアセトンは炭酸ガスを吹込みつつ減壓のもとに除去し，さらに不鹸化物を除き，粗高度不飽和酸をえた。これを鹽酸觸媒のもとにエチルエステルとし，眞空蒸溜を行い，さらに精製のため 10 倍量の石油エーテルに溶し，アルミナを用いてクロマトグラフを行つた。かくして得た試料は無色無臭の液體で，ベツクマン・スペクトルフォトメーターによる紫外部の吸收曲線は第1圖の如くである。

なお一般特數は第 2 表に示す。(表中過酸化物價は Lea[10] の方法，共軛酸量は Am. Oil Chem. Soc. Official and Tentative Method: Cd, 7-481 により算出した)。

本試料はドライアイスをつめた魔法瓶中に貯藏し極力



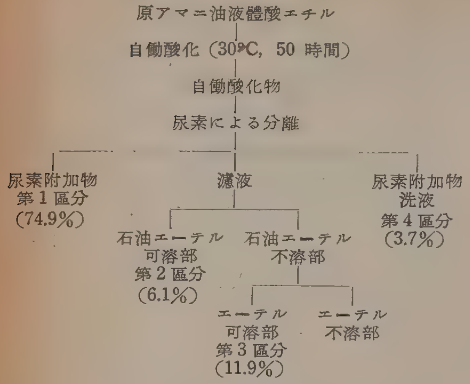
第 1 圖　高度不飽和酸エチル・エステル吸收曲線

酸化を防止した。また自働酸化物は上記精製エステルをシヤーレに入れ，4mm 程度の薄層とし室溫中に放置し酸化せしめた。

アマニ油液體酸エチル： 常法により製したアマニ油混合酸にアセトンを加え，上記同様に處理して固體酸を除いたのち，エチルエステルとし，同様クロマトグラフを行つた。

アマニ油液體酸エチルの自働酸化物： 前記アマニ油液體酸エチルをシヤーレに入れ，30°C の恒溫器中に放置し，自働酸化せしめた。またこの酸化生成物 10g をとり，これを尿素 700g を溶かした無水メタノール 1l 中に投入し 50°C でよく均質化させた後，一夜放置し，尿素附加物を濾別した（第1表第1區分)。濾液は水を加え

第 1 表　尿素附加物によるアマニ油液體酸自働酸化物の分離



メタノールを 85% まで稀釋し，石油エーテルを用いて抽出をくりかえし，石油エーテル可溶物を分つた（第 2 區分）。第 2 區分を除いたメタノール溶液はさらにエーテルで抽出を行つた（第 3 區分）。なお尿素附加物は尿素飽和冷メタノールで十分洗滌した。（洗滌液は第 4 區分とす。（ ）內は得量）

第 2 表に示すごとく第 1 區分は過酸化物及び共軛酸含量少く，原アマニ油液體酸及びそれが多少重合したものより成ると思われる。第 2～3 區分は多量の過酸化物を含み，二重結合の移動に伴う共軛酸を多く生じている。なお第 3 區分はアルデヒドを含んでおらぬ。

オレイン酸エチル：　ツバキ油より得た混合脂肪酸より鉛鹽アルコール法により固體酸を分つた後エチル・エステルとし，これを眞空蒸溜に附した。

B. 動物試験法：　體重 80g 程度の白鼠に脂質を除いた第 3 表の如き基本飼料 1 日 1 匹當り 9.5g を投與し，體重ほぼ恒量となつた時試料エステル 0.5g を添加し，以後大略 30 日間の體重增加を測定するとともに白鼠の狀態を觀察した。なお吉田[1] は高度不飽和酸の毒性は多量の酵母を與えることによつて消失すると述べているところから，酵母は使わず，各種ビタミン類の結晶を混合投與した。この際とくにフラビンについては白鼠の最低必

第 3 表　飼料組成

%		ビタミン類	飼料 100g 中の mg
精製白米粉	83	ビタミンA	80（U.S.P.U）
脱脂カゼイン	10	トコフエロール	3
マ氏鹽	3	チアミン	0.125
供試油	2～5	リボフラビン	0.1
		ピリドキシン	0.1
		パントテン酸	1
		ニコチン酸	1.5
		コリン	100
		イノシトール	200
		P-アミノ安息香酸	0.5
		ビタミンB_{12}	0.0015

第 4 表　純高度不飽和酸エチル投與結果（♂）
10 月 1 日～11 月 10 日（1954）

供試油	41 日間における體重(g) 開始時	終了時	增加量	同平均(g)
無添加	102	115	13	16
	116	135	19	
オレイン酸エチル（對照）	109	147	38	35
	85	112	27	
	110	150	40	
高度不飽和酸エチル	107	143	36	30
	116	143	27	
	105	132	27	

第 2 表　供試エステルの一般性狀

No.		沃素價	鹸化價	過酸化物價 (M.M./kg)	共軛酸（%）ヂイエン	トリエン	テトラエン
(I)	高度不飽和酸エチル	370.27	162.55	5	5	0	0
(II)	同自働酸化物	285.74	171.20				
(III)	アマニ油液體酸エチル	160.23	176.01	0	4.97	0	—
(IV)	同自働酸化物	137.45	184.85	409	6.07	0.08	0
(V)	同第 1 區分（尿素附加物）	143.44	177.30	33	1.01	0	—
(VI)	同第 2 區分	116.48	213.20	1216	30.15	0	0
(VII)	同第 3 區分	77.53	242.97	1585	17.63	0.60	—
(VIII)	同第 4 區分	106.91	223.43	1203	—	—	—
(IX)	オレイン酸エチル（對照）	82.70	184.25	0	—	—	—
(X)	パルミチン酸エチル(對照)	0	196.20	0	—	—	—

第5表　高度不飽和酸エチル及びその自働酸化物投與結果

12月9日～31日（1953）

供試油	系統	性別	23日間における體重増加量(g)			同平均(g)
			第1週	第2週	終了時	
無添加	F	♂	−2	−2	4	5.25
	G	♂	−2	1	9	
	H	♂	−3	−2	5	
	H	♂	−7	−5	3	
オレイン酸エチル（對照）	F	♂	3	14	23	21.5
	G	♀	3	9	22	
	H	♀	2	7	19	
	H	♂	0	9	22	
パルミチン酸エチル（對照）	F	♂	2	5	15	13
	G	♀	0	4	12	
	G	♂	−1	4	13	
	H	♀	0	4	12	
高度不飽和酸エチル	F	♀	2	12	22	19.25
	G	♀	0	10	20	
	G	♂	1	5	18	
	H	♀	−4	5	17	
同自働酸化物	F	♀	−6	（死亡4日目）		
	G	♀	−7	（〃7日目）		
	G	♂	−6	（〃6日目）		
	H	♀	−8	（〃7日目）		

（同符號は同腹を示す）

第6表　アマニ油液體酸自働酸化物投與試驗結果

3月16日～4月5日（1954）

供試エステル	系統	性別	體重(g)		生存日數
			試驗開始時	死亡又は終了時	
(IV) アマニ油液體酸エチル自働酸化物 0.5g	C	♀	49	40	死亡 4日目
	C	♀	41	30	〃 3日目
	A	♀	39	44	〃 3日目
	A	♂	38	37	〃 7日目
(V) 同第1區分 0.4g	C	♀	46	56	生存 20日以上
	C	♀	48	64	〃 20日〃
	A	♂	51	79	〃 20日〃
(VI) 同第2區分 0.2g	C	♀	46	46	死亡 2日目
	C	♀	39	39	〃 2日目
	A	♂	53	53	〃 2日目
(VII) 同第3區分 0.2g	C	♀	48	48	死亡 2日目
	C	♀	46	46	〃 2日目
	A	♀	48	43	〃 6日目
	A	♂	52	52	〃 2日目

第 7 表　高度不飽和酸エチル重合物の性状

	N_D^{40}	沃素價	鹼化價	過酸化物價(M.M./kg)
オレイン酸エチル（對照）	1.4440	82.70	184.25	—
原高度不飽和酸エチル	1.4846	348.79	158.14	5
同重合物（120°C. CO_2 中 6 時間加熱）	1.4854	310.62	156.23	31

要量程度を與えるように注意した。

C. **動物試驗結果：** 純高度不飽和酸エチル及び自働酸化物を投與した結果は第 4，5 表の通りである。

これ等の結果によれば純高度不飽和酸エチルを與えた白鼠は試料をよく食下し，毒性はいささかも現れず，良好な成長をとげた。一方高度不飽和酸自働酸化物は極めて強い毒性を示し，白鼠の口邊，四肢，肛門の周圍は脱毛し，何れも 1 週間以內に斃死することを認めた。

なお本試驗のほかに，高度不飽和酸を僅か酸化せしめたもの，及び自働酸化を極度に進めたものについても動物試驗を行つたがこの場合は上記試驗よりもいくぶん毒性は弱まつた。

つぎにアマニ油液體酸自働酸化物及び尿素法により分離した各區分について試驗を行つた。この際各區分は原自働酸化物中に含まれる量に應じ，投與量を 0.2～0.4g に加減した。また試料が少量のため Tween 85 の 5% 溶液に溶解し經口投與した。(第 6 表)

本結果を見るに，アマニ油液體酸自働酸化物は高度不飽和酸の時と同樣の毒性を示し，白鼠の肛門のまわりの毛は脱毛し，何れも 1 週間以內に斃死した。また尿素附加物を作らぬ第 2～3 區分は 1 日 1 匹當り 0.2g の投與にかかわらず，自働酸化物と同樣の症狀を呈して死亡した。一方酸化物中 75% を占める未變化液體酸（第 1 區分）には全く毒性は現れなかつた。

第 8 表　高度不飽和酸重合エステルの動物試驗結果
4 月 16 日～5 月 1 日 (1954)

供試油	性別	15 日間の増加體重 (g)	同平均 (g)
無添加（對照）	♀	8	8
	♀	8	
オレイン酸エチル（對照）0.5g	♀	16	13
	♀	10	
原高度不飽和酸エチル 0.5g	♀	19	17.5
	♂	17	
	♀	16	
	♀	18	
同重合エステル 0.5g	♀	20	18.7
	♀	17	
	♀	19	

實驗 2： 高度不飽和酸エチル重合物投與試驗：

不飽和酸自働酸化物中に生ずる重合物の毒性の程度を調べるため，高度不飽和酸エチルに酸性白土を 2% 加え，120°C に 6 時間眞空重合せしめて，その沃素價を自働酸化生成物と同程度まで下げ動物試驗を行つた。供試重合物の性狀及び飼育結果は第 7～8 表の如くである。

本結果を見るに加熱重合によつて自働酸化物と同程度まで沃素價を下げた高度不飽和酸重合體はいささかも毒性を示さず，白鼠は良好な成長をとげた。即ち本結果より不飽和酸は多少分子量が增しても，過酸化物量の少い場合は毒性を示さぬことを知つた。

さらに桐油を用い，共軛酸の呈する毒性の程度を調べたが，不飽和酸自働酸化物中に生ずる量ぐらいでは問題とするに足らぬことを認めた。

實驗 3：

以上の結果から，不飽和酸自働酸化生成物のうちもつとも毒性の強い構造は過酸化物構造であろうと推定した。この推定を確認するため，アマニ油液體酸自働酸化物を過酸化物價定量と同一方法[10]により處理し，果して毒性が消失するか否かを調べた。

即ちアマニ油液體酸自働酸化物にクロロフォルム・氷醋（1:2）混液 20 倍量を加え，供試エステルと同重量の沃度カリを投入し，CO_2 中で加溫し，遊離沃度を除き殘存する沃度をチオ硫酸ソーダ液で取去つた後十分水洗し，減壓下にクロロフオルムを除去した。得たる試料の性狀及び動物試驗の結果は第 9，10 表の通りである。

本結果を見るに過酸化物の大部分を除去したものの毒性は全く薄れ，白鼠は死亡しない。即ち不飽和酸自働酸化生成物のうち過酸化物の毒性がもつとも強いことがわかる。ただし白鼠はいくぶん下痢をおこしやすく，過酸化物以外に多少有毒なものが生成されているらしい。

本結果が高度不飽和酸自働酸化物の場合にも適用し得るかどうかを知るため，高度不飽和酸自働酸化物について試驗し，第 11，12，表に示すごとく全く同一の結果をえた。

實驗 4： 不飽和酸自働酸化物にふくまれる過酸化物のマウスに對する致死量

高度不飽和酸自働酸化物中の過酸化物の毒性の程度を

第9表　過酸化物を除いたアマニ油液體酸自働酸化物の性状

	沃素價	鹼化價	過酸化物價 (M.M./kg)
原アマニ油液體酸自働酸化物	137.45	184.85	415
同過酸化物を除いたもの	136.28	-	45

第10表　動物試驗結果

3月26日～4月15日 (1954)

供試油	性別	體重 (g) 試驗開始時	體重 (g) 死亡又は終了時	生存日數
原アマニ油液體酸自働酸化物 0.5g	♀	50	50	死亡 2日目
	♂	61	61	死亡 3日目
	♀	89	94	死亡 11日目
同過酸化物を除いたもの 0.5g	♂	53	55	生存 3週間以上
	♀	50	50	生存 〃
	♀	91	100	生存 〃

第11表　高度不飽和酸自働酸化物及び過酸化物を除いたものの性状

	沃素價	鹼化價	過酸化物價 (M.M./kg)	共軛酸 (%) テイエン	共軛酸 (%) トリエン	共軛酸 (%) テトラエン
原高度不飽和酸	320.57	156.79	14			
同自働酸化物	291.00	179.87	485	7.3	0	0
過酸化物を除いたもの	301.04	170.64	33	7.25	0.43	4.63

第12表　動物試驗結果

5月24日～6月11日 (1954)

	系統	性別	體重 (g) 開始時	體重 (g) 終了時	體重 (g) 18日間における增加量	生存日數
無添加 (對照)	A	♂	76	92	16	生存 18日以上
	B	♀	67	77	10	生存 〃
高度不飽和酸自働酸化物	A	♂	72	72		死亡 7日目
	A	♀	73	70		死亡 4日目
	B	♀	71	61		死亡 3日目
同過酸化物を除いたもの	A	♂	77	96	19	生存 18日以上
	A	♀	71	84	13	生存 〃
	B	♂	75	84	9	生存 〃

第13表　高度不飽和酸自働酸化物のマウスに對する致死量 (LD_{50})

用量 (Total Peroxide oxygen mg.)	1.79	3.58	5.017	7.16
死亡率	0/12	2/12	6/12	10/12

第 14 表　不飽和酸自働酸化物を投與した白鼠の肝油及び筋肉油中の過酸化物量

供試油	供試油の過酸化物價 (M.M./kg)	過酸化物價 (M.M./kg)	
		肝油	筋肉油
無添加	—		3
オレイン酸エチル (對照)	0		2
原高度不飽和酸エチル	40		14
同自働酸化物	1405		37
アマニ油液體酸エチル輕度自働酸化物	409	20	
アマニ油液體酸エチル自働酸化物	3170	89	

知るためマウスをつかつてその致死量を定めた。即ち體重 18g のマウスに高度不飽和酸自働酸化物を 0.12～0.5g の範圍で經口投與し 24 時間以内に死亡する狀態を觀察した。その結果は第 13 表の如くである。

本結果は 7.16mg の Total Peroxide Oxygen を與えたものも 2 匹生き殘つてしまつたため，正確な致死量を求め得ないが，かりに 5.17mg をとつて LD_{50} (50% 致死量)を求めてみると LD_{50}=278 mg. Total peroxide oxygen/Kg. となる。

この値を過酸化ベンゾイルの致死量とくらべてみると[12]，もしも過酸化ベンゾイルの示す毒性がその過酸化物構造のみに由來するものとすれば LD_{50}=521 mg. Peroxide oxygen/Kg. となり高度不飽和酸自働酸化物中の過酸化物の方が倍近くも有毒なことになる。

實驗 5. オレイン酸エチルエステル自働酸化物の毒性の程度：

高度不飽和酸及びアマニ油液體酸自働酸化物の毒性が過酸化物構造に由來するということが，二重結合一コのオレイン酸についてもあてはまるかどうかを確かめるため，オレイン酸エチル自働酸化物をつくつた。即ち沃素價 73.5 のオレイン酸エチルを濾紙上に塗布し，一晝夜室溫に放置後，エーテルを用いて回收したところ過酸化物價 319 のものを得た。本試料を體重 20g のマウスに一匹當り Total peroxide oxygen として 6 mg を投與したところ，マウスは何れも烈しいセボレヤ症狀を呈したが死亡數は 6 匹中 1 匹に止まつた。

そこでアマニ油液體酸自働酸化物の場合と同樣尿素附加物をつくり，未變化オレイン酸を分別したところ，過酸化物價 1050，沃素價 71.47 のものが得られた。この試料を用いマウスにほぼ前記同樣の過酸化物量になるごとく試料 0.2g を投與すると，多少下痢はおこしたが 6 匹のマウスは全部生存した。しかし翌日また同じ量を與えると 6 匹中 4 匹は死亡した。

即ちオレイン酸は自働酸化により二重結合を殆んど消失せぬ故高度不飽和酸とは自働酸化の形式に相違があるようだがその毒性はかなり強いといえる。

實驗 6. 不飽和酸自働酸化物を投與した白鼠の肝臟及び筋肉中の過酸化物量：

不飽和酸自働酸化物中の過酸化物が示す毒性の本態を突きとめる一手段として，肝油及び筋肉油中の過酸化物量を測定した。即ち高度不飽和酸エチル及びアマニ油液體酸エチルの自働酸化物をそれぞれ 0.5g 白鼠に投與し，斃死寸前となつた時これを屠殺し，ただちに肝臟及び筋肉を脱水芒硝と混和し，エーテル抽出により粗脂肪を分ち過酸化物量を定量した。その結果は第 14 表の通りである。

本結果によれば基本飼料のみで飼育したもの及び純オレイン酸エチルを投與したものは過酸化物價が低かつたが高度不飽和酸及びアマニ油液體酸自働酸化物投與群は試料の過酸化物價が高くなるにつれ，投與白鼠の肝油及び筋肉油の過酸化物價も高くなることを認めた。

實驗 7. 白鼠肝臟より分離したミトコンドリアに對する高度不飽和酸自動酸化物の影響：

1 日絕食せしめてグリコーゲンを減少させた白鼠肝臟 (6g) に 54c.c. の 0.25M 蔗糖溶液を加えホモゲナイズした後遠沈法[13]によりミトコンドリアを分離した。本液 25c.c. をとり，これに高度不飽和酸自働酸化物（過酸化物價 530）1 滴を加え，よく振盪し，ヤーヌスグリーン B を用いて超生體染色を行い檢鏡した。また殘りのミトコンドリア蔗糖溶液に Lea の方法により高度不飽和酸自働酸化物から過酸化物を除いたものを 1 滴加え，同樣に處理した。

その結果過酸化物を含むものはかなりミトコンドリアの數が減少することを認めた。

III. 考　察

以上の結果から考察するに出來るだけ酸化を防いだ純高度不飽和酸は榮養的に劣らぬことが認められ，さらに從來からいわれているごとき多量の酵母ないしフラビンを必要としない。ただし，高度不飽和酸自働酸化物は猛毒を示し，從來信じられていた高度不飽和酸毒はじつはこの酸化生成物にほかならぬと思われる。またこの結果

よりすれば所謂魚油毒とは魚油そのものの示す毒性ではなく，含有不飽和酸の自働酸化物に起因するといえる。さらに酸化生成物のうち過酸化物構造はもつとも強い毒性を示すことを確認した。ただし，オレイン酸については，高度不飽和酸酸化物と同一量の過酸化物を與えてもいくぶん毒性が弱いが，これは高度不飽和酸酸化物の毒性には，過酸化物以外に各種の酸化生成物を生じ，これ等が過酸化物毒に加擔している點があるためと考えられる。

さて殘された問題は過酸化物が白鼠にたいしてどのような作用を及ぼして毒性が生ずるかということである。

Dubouloz[11] 等によれば白鼠に過酸化物を含む油脂を經口投與した場合，1.5 時間以後に過酸化物の半量が消化管中に見出されるという。また筆者等も不飽和酸自働酸化物を投與した白鼠の肝臓及び筋肉中にかなりの過酸化物が存在したことを認めた。これ等の結果をもとにして考えると，消化管を通じて體組織内に入りこんだ過酸化物がそのままの形で害作用を及ぼすか，あるいは過酸化物がさらに分解し，この二次分解生成物が毒性を示すとも考えられる。

即ち不飽和酸自働酸化生成物の附着した顔面，四肢，あるいは肛門の附近の毛が抜けやすいこと及び小腸の粘膜に細胞浸潤が認められることにより過酸化物が直接胃や腸の內壁に作用し，組織をおかすのではないかとも思われる。またもう一つの考え方としては過酸化物が肝臓中のミトコンドリアの數を減少させたごとく，酵素系に作用しその作用を減退あるいは停止せしめるのではないかとも考えられる。

IV. 摘　　要

従來有毒とされていた高度不飽和酸は新鮮な魚體內に存在する場合のように未變化なものであれば，決して毒性は示さぬであろうと豫想し，この豫想を證明するため白鼠を用いて試験を行い，次の如き結果をえた。

（1） 出來るかぎり精製を行つた高度不飽和酸エチル・エステルを，飼料中のビタミン類がかなり少い狀態で白鼠に投與したところ，なんら毒性は認められず，白鼠は正常な成長をとげ，對照として用いたオレイン酸エチルにさほど劣らぬ値を示した。

（2） 上記高度不飽和酸エチルを室温で自働酸化せしめたものは烈しい毒性を示し，白鼠の體重は減少し，口邊，四肢，肛門の邊の毛は脱毛し間もなく斃死した。この結果からして従來信じられていた高度不飽和酸の毒性は高度不飽和酸そのものではなく，實は自働酸化生成物の毒性と思われた。

（3） 自働酸化生成物が毒性を示すという事實は高度不飽和酸の場合だけとはかぎらず，不飽和酸全部についていえるのではないかと思いアマニ油液體酸エチルを自働酸化せしめたものについて試験を行つたところ，全く同一の結果を得た。即ち不飽和酸は二重結合數に應じて自働酸化をうける程度に差があるが，酸化のある段階においてはみな毒性を示すように思われる。また以上の結果をもとにして考えると所謂魚油毒の本態は魚油そのものではなく，含有脂肪酸の酸化生成物に起因するといえる。但しオレイン酸のごとく二重結合一コの不飽和酸はより不飽和な脂肪酸にくらべ，その酸化物の毒性はやや弱いが，これは二重結合の多い脂肪酸は過酸化物以外の酸化主成物が過酸化物毒に加擔しているためであろう。

（4） 不飽和酸自働酸化物中に生ずる有毒成分の構造を究明するため，尿素法を用いて酸化生成物の分離を行い，尿素附加物を作らぬ部分に有毒成分が濃縮されることを認めた。

（5） 實驗 2 として示したごとき補助的試験を行つた結果，不飽和酸自働酸化物中もつとも有毒な構造は過酸化物構造であろうという推定が成り立つた。この推定を證明するため，自働酸化物より過酸化物の大部分を消失せしめた後動物試験を行つたところ，果して毒性の大半はなくなつた。この結果からして，高度不飽和酸自働酸化物に生ずるもつとも有毒な構造は過酸化物構造であることを確認した。

（6） 過酸化物のマウスに對する致死量は大略 278 mg. Total peroxide oxygen/Kg. (LD_{50}) である。

（7） 白鼠に經口投與した不飽和酸自働酸化物中の過酸化物はかなり肝臓及び筋肉中に見出される。

（8） 白鼠肝臓より分離したミトコンドリアに高度不飽和酸自働酸化物を少量加えるとシトコンドリアは急激に減少する。

（9） 東大，病理學教室齋藤，宇數兩氏の所見によれば，高度不飽和酸を投與して斃死寸前となつた白鼠の腎臓の細尿管は擴張し，小腸の粘膜には細胞浸潤が認められた。

（10） 以上の結果からして，高度不飽和酸自働酸化物中の過酸化物の示す毒性は直接體組織を犯すと共に酸素系をも破壊することに起因するのではないかと想像される。

本研究を行うにあたり，有益な御助言を賜つた食糧研究所々長尾崎準一博士，終始御指導を賜つた東海區水産研究所利用部長東秀雄博士，白鼠內臓組織を檢討していただいた東大病理學教室齋藤守，宇數眞の兩氏，動物試

驗に盡力された荒井君枝氏に厚く謝意を表する。

文　　献

(1) 吉田，農化 13, 120 (1937)
(2) 尾崎，農化 8, 1286 (1932)
(3) O. S. Privett et al., J. Am. Oil Chem. Soc. 30, 17 (1953)
(4) S. S. Chang and F. A. Kummerow, J. Am. Oil Chem. Soc. 30, 403 (1953)
(5) D. Atherton and T. P. Hilditch, J. Chem. Soc. p. 105 (1944)
(6) G. N. Catravas et al., Bull. mens. inform. ITERG 6, 384 (1952)
Oleagineux 8, 79 (1953)
(7) J. E. Coleman et al., J. Am. Chem Soc. 74, 4886 (1952)
(8) Daniel Swern et al. J. Am. Chem. Soc. 75, 3135 (1953)
(9) K. T. Zilch, Anal. Chem. 23, 775 (1951)
J. Fugger et al. J. Am. Oil Chem. Soc. 28, 285 (1951)
J. A. Cannon, J. Am. Oil Chem. Soc. 29. 452 (1952)
(10) C. H. Lea, Rancidity in Edible Fats (1939)
(11) P. Dubouloz, J. Fondarai and C. Lagarde, Biochem. et Biophys. 3, 371 (1949)
(12) 大森，岡，薬物致死量集 p. 211 (1953)
(13) W. C. Schneider, J. Biol. Chem. 176, 259 (1948)

（東海區水產研究所）

ビタミンA濃縮物に対する市販防酸化剤の効力

衣 巻 豊 輔・田 部 井 菊 子
(東海区水産研究所)

Stabilizing Effect of Commercial Antioxidants on Vitamin A Concentrate

Toyosuke KINUMAKI and Kikuko TABEI

For the purpose of finding effective antioxidants on the vitamin A concentrate or its ester, studies have been made on stabilization of the vitamin A concentrate with commercial antioxidants such as nordihydroguaiaretic acid (N. D. G. A.), butylated hydroxyanisole (B. H. A.), B. H. A. compound (mixture of 67 % B. H. A., 20 % propyl gallate and 13 % citric acid), ethyl protocatechuate (E. P.), E. P. compound (mixture of 66.79 % E. P., 20 % propyl gallate and 13.3 % citric acid), propyl gallate (P. G.) and isoamyl gallate (I. G.).

1. Experiments for moleculecular distillate of acetylated vitamin A concentrate.

In a series of tests the above antioxidants (0.5 %) with or without synergists (0.5 %) are added to the sample prepared from whale liver oil. Numbers of a small beaker, each containing one gram of different mixture or the control are placed in an incubator kept at 30°C. Vitamin A potency is measured by a BECKMAN spectrophotometer at intervals of time. Degrees of colour, odour and / or taste are represented through the senses.

Results obtained are as follows.

a) B. H. A. is the most effective, and B. H. A. compound and N. D. G. A. come next. P. G., E. P., E. P. compound and I. G. show very weak stabilizing effect (table 1, figures 1 and 2).

b) In all cases but E. P. and E. P. compound, addition of synergist increases the stabilizing effect of antioxidant. Synergic action of thiourea is very strong and better than that of citric acid.

c) Stabilizing action of N. D. G. A. and B. H. A. is different. The loss of vitamin A after the end of induction period is greater in case of the former than the latter.

d) Change in colour, odour and taste of the sample vitamin A concentrate is shown in figures 3 and 5. In case of N. D. G. A. destruction of vitamin A agrees with the disapearance of colour, development of rancid odour and bitter taste.

e) Stability of vitamin A is increased in proportion to the concentration of B. H. A. compound (table 2 and 4).

But synergic action of thiourea is not proportional to its concentration (table 3 and figure 6).

2. Experiments for the vitamin A alcohol and its ester (acetate) concentrated fiom fish liver oil.

Using the same method as 1, the following results are obtained.

a) Non-diluted vitamin A alcohol is not comparable with its ester in stabilizing effect.

1954 年 10 月 13 日受理 東海区水産研究所業績 B 第 171 号 (印刷費負担)

Because the increase of viscosity of the sample accompanied by the oxidation of vitamin A prevents further oxidation to obscure stabilizing effect of antioxidant (table 4).

b) In case of diluted ones, however, they do not show this phenomenon. If diluted with vegetable oil, vitamin A alcohol is more stable than its ester. Consequently, weak antioxidants like E.P. compound stabilize vitamin A ester fairly well but have almost no effect on the alcohol. Both B.H.A. compound and N.D.G.A. are effective on vitamin A alcohol and its ester, but effectiveness of N.D.G.A. on the ester is inferior to that of B.H.A. compound (figure 7).

緒　　言

当研究所では合成ビタミンAに品質が充分に対抗し得る天然ビタミンA濃縮物の製造について研究している。ビタミン油からビタミンAを濃縮する場合ビタミンAの純度が高まると共に原油に含まれている防酸化物質或は Synergist は除かれるから濃縮ビタミンAはそのまゝでは非常に酸化され易い。合成ビタミンAに代るべきビタミンA濃縮物の製造を行う場合，その安定化が問題となる。

食用油脂或はビタミン油の防酸化剤に関する研究は甚だ多いが，ビタミン油より得た不鹼化物又はそのエステルに対する防酸化剤の効力を比較した例は殆どない。防酸化剤の効力は油脂に初めから存在する防酸化物質或は Synergist により大きく影響されるから，従来の防酸化剤の効力をそのまゝ不鹼化物或はそのエステルの場合に期待することは出来ないのでビタミンA濃縮物及びそのエステルについて各種防酸化剤の効力を試験した。

防酸化剤として知られているものは非常に多数あるが，本試験に於ては食用として差しつかえないとされている防酸化剤として Nordihydroguaiaretic acid (N.D.G.A.)，Butylated hydroxyanisole (B.H.A.)*，Ethyl protocatechuate (E.P.)．Propyl gallate (P G.) および Isoamyl gallate (I.G.) を撰び，且つ Synergist としてはクエン酸とチオ尿素を用いた。

我々の得た結果によればビタミンA濃縮物の防酸化剤としては B.H.A. が最も効力があつた。

チオ尿素は従来 Vitamin C および B_2 の防酸化剤として用いられているが，ビタミンAの防酸化に於て Synergist としての効力が非常に強く，在来より知られているクエン酸よりも優つていた。

実　験　の　部

I． 各種防酸化剤の防酸化効力

先ず試料に対し 0.5% の割合で各種防酸化剤を添加その防酸化効力を試験した。

試　料

i） ビタミンA濃縮物

分子蒸溜したクジラ肝油より鹼化法によつて得たビタミンA(ビタミンA単位65.2万U.S.P.U./g 吸光比 0.717 をアセチル化し，(アセチル化物のビタミンA単位 56,9 万 U.S.P. U./g, 吸光比 0.698) さらに分子蒸溜を行つて得た第3溜分（温度 120°C で溜出した部分）を使用した。その性状は次の如くである。

$E^{1\%}_{1\,cm}$ 価					ビタミンA単位 U.S.P.U./g	OSER 補正率 f	吸光比	
300 mμ	313 mμ	328 mμ	338.5 mμ	350 mμ			300/328	350/328
270	384	436	363.5	247	82.7 万	1.00	0.620	0.567

このビタミンA濃縮物は淡黄色、苦味なく，殆ど無臭であつた。且つ、普通の肝油に比較すると粘度低くさらさらしている。

* 商品に Sustane 1-F 及び 3-F 等がある。

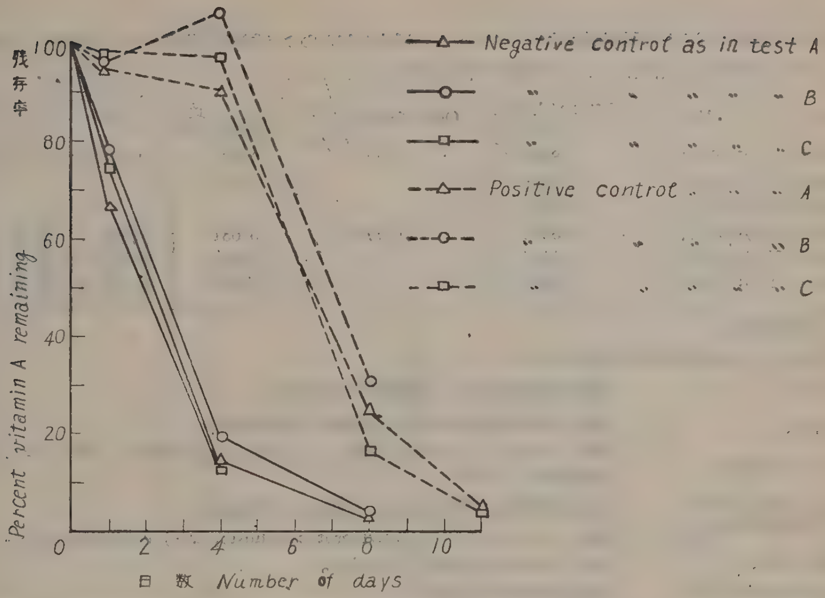


Fig. 1 第1表に於ける A, B, C 3試験の対照の比較。無添加及び N.D.G.A. 0.5% 添加を対照とした
Comparison of the negative and positive controls (0.5% N.D.G.A. added) in tests A, B and C as table 1.

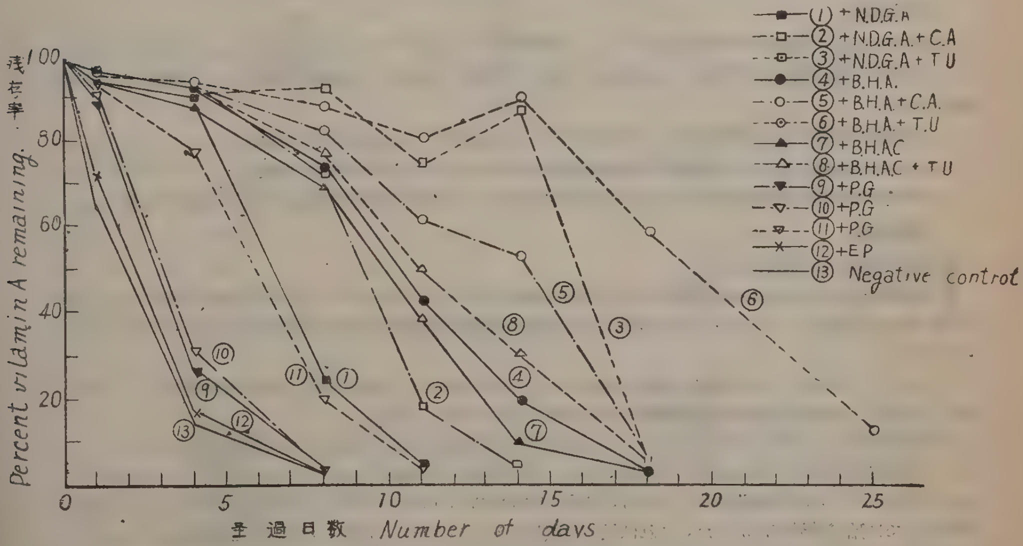


Fig. 2 各種防酸化剤の効力
Stabilizing effect of various antioxidants

試験は相当長期に亘るため試料保存中のビタミンAの減少が起らぬよう試料を炭酸ガス封入密栓後，冷蔵庫中（−10°C～20°C）に貯えたが，この条件の下では下表に示すごとくビタミンAは安定であつた。

年　月	ビタミンA単位 U.S.P.U./g 万	OSER 補正率 f	吸光比 E 300/E 328	備考
1953 年 9 月 6 日	82.7	1.00	0.620	分子蒸溜直後
1953 年 9 月 10 日	82.6	—	0.642	
1953 年 10 月 13 日	81.7	—	—	
1953 年 11 月 17 日	83.0	1.00	0.631	試験 I 開始前
1953 年 11 月 26 日	81.5	—	0.632	試験 I.B. 開始前
1954 年 1 月 28 日	82.2	—	0.635	試験 Ⅱ 開始前

ii）供試防酸化剤

防酸化剤として次の如きものを使用した。

N.D.G.A,　　協同化学株式会社より提供された輸入品

B.H.A.
配合 B.H.A.
共に日本揮発油株式会社より提供された輸入品
配合 B.H.A. は 67% B.H.A.，20% Propyl gallate，13% クエン酸の混合物といわれる。

Propyl gallate(P.G.)
Ethyl protocatechuate (E.P.)
配合 E.P.
共に高砂香料工業株式会社より提供された国産品
配合 E.P. は 66.79% Ethyl protocatechuste，20% Propyl gallate，13.3% クエン酸の混合物といわれる。

Isoamyl gallate (I.G.)　　吉富製薬株式会社提供

iii）Synergist

Synergist としてクエン酸及びチオ尿素を用いた。共に試薬1級品。

実験方法

内径 3cm，高さ 5.5cm の平底の小ビーカーに濃縮ビタミンAアセテイト 1g を料取し，それに対して予めよく粉砕した防酸化剤 0.005g，Synergist 0.005g を添加し*，湯浴中で短時間加温しつゝ振盪してよく溶解混合する。

この濃度では防酸化剤は溶解するが，補助剤のクエン酸及びチオ尿素は完全に溶解しない。

この小ビーカーを 30°C の恒温器に入れ試験の都度その中から 0.01～0.02g 程度をとり，イソプロパノールに溶解 BECKMAN 光度計にて，ビタミンA単位を測定し、同時に肉眼判定により色の程度を記録した。

実験結果

第 1 表に得られた結果を示す。

総ての防酸化剤を同時に入手し得なかつたため，時期を異にした A. E. C. の三つの試験を行つたが，第1図に示す如く対照として用いた N.D.G.A. 添加及び防酸化剤無添加の場合の結果は3試験ともよく一致している。

したがつて A.B.C. の3試験を直接に比較することが出来るから，第 2 図には第1表の結果をまとめて図示した。但し防酸化効力弱く図示困難なものは第2図より除いてある。

第1表及び第 1，2 図におけるビタミンAの単位及び残存率はE価より算出した見掛の値である。

i）防酸化の効力は Synergist を使用せざる時（第2図にては実線で示す。）には B.H.A.，配合 B.H.A.，N.D.G.A. の場合顕著に認められる。多少の差はあるが P.G.，E.P.．配合E.P.，I.G. はこの濃度(0.5%）では殆ど効果がなかつた。これは従来の報告と異るが．恐らく試料のビタミンA濃縮物が二度分子蒸溜してあるから通常のビタミン油と異なりそれ自体に含まれる天然の防酸化剤の含量が極めて小となつた

* 既にクエン酸を配合してあるものにはクエン酸を加えなかつた。

Table. 1 各 種

Stabilizing effec

色 Colour (C.) : + 黄 Yellow, ++ 橙黄

ビタミンA単位 Vitamin A Potency (V.A.P.) : E

残 存 率 Percent Vitamin A Remaining (V.A.

Test A

番号 No.	防酸化剤及び Synergist Antioxidant and synergist. (添加量 Concentration : 0.5%)	経過 0 色 C	0 ビタミンA単位 V.A.P.	0 残存率 V.A.R.	1 色 C	1 ビタミンA単位 V.A.P.	1 残存率 V.A.R.	4 色 C	4 ビタミンA単位 V.A.P.	4 残存率 V.A.R.	過 色 C	ビタミンA単位 V.A.
			×10⁴	%		×10⁴	%		×10⁴	%		×
1	N.D.G.A.	++	83	100	+++	78.7	94.8	++++	75.1	90.5	+	20.
2	N.D.G.A.+C.A.	++	〃	〃	++	78.5	94.5	+++	77.5	93.4	+++	68.
3	N.D.G.A.+T.U.	++	〃	〃	++	79.5	95.9	++ 濁	76.0	91.5	+++ 濁	77.
4	B.H.A.	+	〃	〃	+	80.5	97.0	++	77.0	92.8	++	62.
5	B.H.A.+C.A.	+	〃	〃	+	79.8	96.1	+′	78.3	94.4	++	69.
6	B.H.A.+T.U.	+	〃	〃	+	78.7	94.8	+′ 濁	78.2	94.2	+++ 濁	73.
7	B.H.A.C.	+	〃	〃	+	78.6	94.8	+′	73.2	88.2	+′	58.
8	B.H.A.C.+T.U.	+	〃	〃	+	79.5	95.9	++′ 濁	75.4	90.9	+++	64.
9	P.G.	++	〃	〃	++	74.5	89.8	+′	22.4	27.0	+	3.
10	P.G.+C.A.	++	〃	〃	++	76.2	91.1	+′	26.7	32.2	+	3.
11	P.G.+T.U.	++	〃	〃	+++	77.5	93.4	+++ 濁	65.2	78.5	++ 濁	16.
12	None	+	〃	〃	+	55.3	66.7	+	12.3	14.8	+	2.
13	〃	+	〃	〃	+	57.7	69.5	+	11.9	14.3	+	-

Test B

番号 No.	Antioxidant and synergist	0 C	0 V.A.P.	0 V.A.R.	1 C	1 V.A.P.	1 V.A.R.	4 C	4 V.A.P.	4 V.A.R.	C	V.A.
14	E.P.	+	81.5	100		60.0	73.6	+	14.5	17.8	+	2.
15	E.P.+C.A.	+	〃	〃		61.9	75.9	+	18.1	22.2	白濁	3.
16	E.P.+T.U.	+	〃	〃		61.2	75.2	++ 濁	15.3	18.7	白濁	3
17	E.P.C.	+	〃	〃		71.5	87.7	+	17.4	21.4	白濁	2
18	E.P.C.+C.A.	+	〃	〃		68.5	84.0	+	20.1	24.7	白濁	3
19	E.P.C.+T.U.	+	〃	〃		67.5	82.9	+ 濁	19.9	24.4	白濁	3
20	N.D.G.A.	++	〃	〃		78.1	96.0	+++	86.9	106.5	+	25
21	None	+	〃	〃		63.6	78.0	+	15.9	19.5	+	2

Test C

番号 No.	Antioxidant and synergist	0 C	0 V.A.P.	0 V.A.R.	1 C	1 V.A.P.	1 V.A.R.	4 C	4 V.A.P.	4 V.A.R.	C	V.A.
22	I.G.	—	82.2	100	+	73.1	89.0	+	14.5	17.6	白濁	
23	I.G.+T.U.	—	〃	〃	++	82.2	100.0	++	23.1	28.2	〃	3
24	N.D.G.A.	—	〃	〃	++	80.5	98.0	++++	80.0	97.3	+	13
25	None	—	〃	〃	+	61.4	74.7	+	10.3	12.5	白濁	

防 酸 化 剤 の 効 力

of various antioxidants

Orange yellow, +++ 橙 Orange, ++++ 赤 Red, +++++ 濃赤 Dark red

$_{m}$ 328mμ × 1900 U.S.P.U./g

.)

	日		数				Number of days								
	11			14			18			25			28		
残存率 V.A.R.	色 C	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.
		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%			
25.0	+	4.15	5.0	+濁	—	—	白濁	—	—	++濁	—	—			
82.7	+	15.7	18.9	+濁	4.04	4.87	白白	—	—	++濁	—	—			
93.2	+++濁	62.7	75.5	+++	72.7	87.5	濁濁	3.49	4.21	+++濁	—	—			
74.9	++	36.4	43.8	++	15.7	18.9	++′	2.75	3.32	++濁	—	—			
83.6	++	52.1	62.8	++	44.8	54.0	++	5.49	6.61	++濁	—	—			
89.1	+++濁	67.7	81.5	+++濁	75.0	90.5	+++濁	49.2	59.3	+++濁	10.8	13.0			
70.2	++	32.8	39.6	+	7.5	9.04	++	2.48	2.99	++濁	—	—			
77.6	+++	42.4	51.0	++	26.0	31.4	++濁	4.52	5.45	++濁	—	—			
3.86	白濁	—	—	白濁	—	—	白濁	—	—	++濁	—	—			
3.86	白濁	—	—	—	—	—	白濁	—	—	++濁	—	—			
19.9	+濁	2.99	3.6	+濁	—	—	濁	—	—	+++濁	—	—			
2.94	白濁	—	—	白濁	—	—	白濁	—	—	+′稍褐	—	—			
—	白濁	—	—	白濁	—	—	白濁	—	—	+′稍褐	—	—			
3.31	白濁	—	—				白濁	—	—				白濁	—	—
4.28	〃	—	—				〃	—	—				〃	—	—
4.14	〃	—	—				+濁	—	—				+濁	—	—
3.35	〃	—	—				白濁	—	—				白濁	—	—
3.90	〃	—	—				〃	—	—				〃	—	—
4.18	〃	—	—				+濁	—	—				+濁	—	—
30.9	+	—	—				白濁	—	—				白濁	—	—
3.56	白濁	—	—				〃	—	—				〃	—	—
—	白濁	—	—	白濁	—	—									
3.98	〃	—	—	〃	—	—									
16.3	+	3.23	3.93	〃	—	—									
—	白濁	—	—	〃	—	—									

ためと考えられる。

ii) Synergist 添加は E.P.，配合 E.P. の場合を除き，いずれの場合に於ても認められ特にチオ尿素を N.D.G.A.，B.H.A. P.G. に対して使用した時に最大の効果が見られた。既に他の Synergist を配合してある配合 B.H.A.，配合 E.P. 等に対しては左程の効果は見られなかつたのは当然である。クエン酸添加も N.D.G.A.，B.H.A. に対し，かなりの効果を示したが，チオ尿素よりは劣つていた。

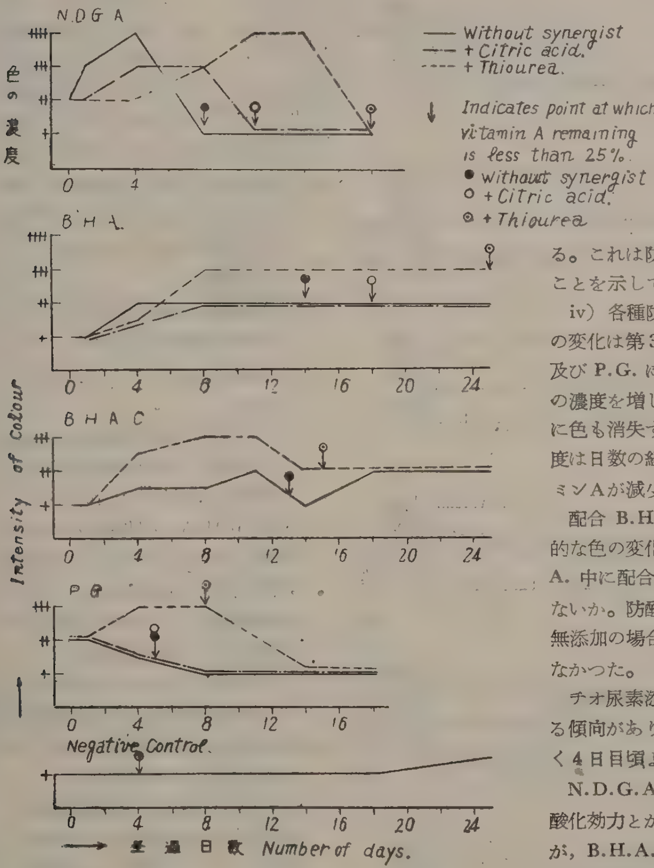


Fig. 3 防酸化剤を加えた試料の色の変化
Change in colour of sample with atioxidant

iii) N.D.G.A. と B.H.A. とを比較すると誘導期間はほぼ同一であるが，N.D.G.A. が誘導期間を過ぎると急激に効力が減少するに対しB.H.A. は誘導期間を過ぎてもかなりの効果が残存する。叉 Synergist を加えた場合に於ても，同様な傾向が見られる。これは防酸化剤のきゝ方が単純でないことを示している。

iv) 各種防酸化剤を加えた場合生ずる色の変化は第3図に示す如くで N.D.G.A. 及び P.G. に於ては誘導期間中に次第に色の濃度を増しビタミンAが減少すると同時に色も消失する。B.H.A. に於ては色の濃度は日数の経過と共に次第に増すが，ビタミンAが減少しても色の変化は起らない。

配合 B.H.A. は N.D.G.A. との中間的な色の変化を示すが，これは配合 B.H.A. 中に配合してある P.G. によるのではないか。防酸化効力の殆どない防酸化剤は無添加の場合と同様に殆ど色の変化を示さなかつた。

チオ尿素添加の場合は一般に色は濃くなる傾向があり，且つ第1表より明らかな如く4日目頃より濁りを生ずる。

N.D.G.A. の場合には，色の変化と防酸化効力とが密接な関係があるようであるが，B.H.A. ではこの関係が明瞭でない。この事実は iii) に述べた如くビタミンA減少の傾向がこの両者で異り，防酸化の作用機構が夫々異る一つの証左であろう。

II. 各種濃度の B.H.A. の防酸化効力

I に於てビタミンA濃縮物の防酸化剤としては B.H.A. が最も効力があることが判つたから，試料油に対する B.H.A. の添加量を変えその効力を試験した。

試　料

i) ビタミンA濃縮物

I と同様のものを使用した。

ii) 防酸化剤

I と同様の配合 B.H.A. 及び対照として N.D.G.A. を使用した。

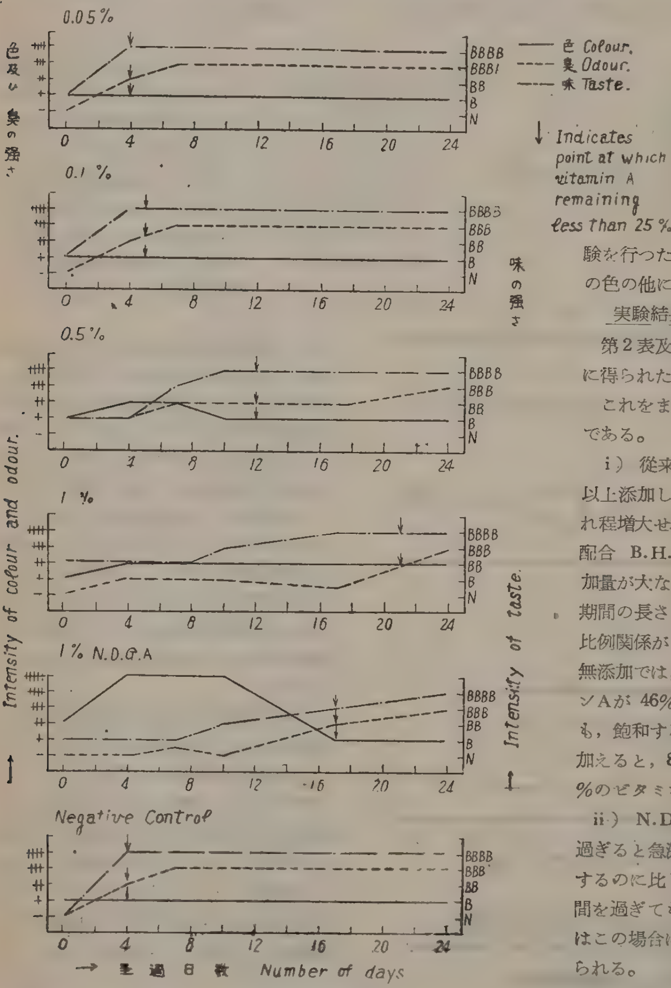


Fig. 5 配合 B.H.A. を加えた試料の色，臭及び味の変化
Change in colour, odour and taste of sample with B.H.A. compounds in various concentrations.

実験方法

I と同様であるが配合 B.H.A. の添加量を 0.05%, 0.1%, 0.5%, 1%, 5%, 飽和 (約 20%) とした。対照として N.D.G.A. 1%, 及び無添加の試験を行つた。なお I に於ては試料の色の他に臭及び味を記録した。

実験結果

第2表及び第4図(折込を見よ)に得られた結果を示す。

これをまとめてみると次の如くである。

i) 従来，防酸化剤は或る濃度以上添加しても，防酸化効力はそれ程増大せぬ様にいわれていたが配合 B.H.A. の防酸化効力は添加量が大なる程大であつて，誘導期間の長さと添加量の間にはほゞ比例関係がなりたつた。防酸化剤無添加では，1 日目に既にビタミンAが 46% になるような試料でも，飽和する程配合 B.H.A. を加えると，88 日後に於ても尚 70 %のビタミンAが残存する。

ii) N.D.G.A. が誘導期間を過ぎると急激に防酸化効力が減少するのに比し，B.H.A. が誘導期間を過ぎても効力が残存する傾向はこの場合に於ても明らかに認められる。

ii) 試料の色，臭，味とビタミンAの減少との関係を示したものが第 5 図である。B.H.A. 添加量 0.05, 0.1% に於ては無添加の場合と同様に殆ど変化しないが，0.5, 1, 5% 飽和 (約 20%) の場合は

Table. 2 各 種 濃 度 の 配

Stabilizing effect of B.H.A. comp

臭 odour (O.)

味 Taste (T.) : N.=None, B=Slightly bitter, BB=Moderately bitter, BBI

番号 No	防酸化剤 Antioxidant (添加量 Concentration)	経過 日																		
		0					1					4					7			
		色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビ ン 首 V.
					×10⁴	%				×10⁴	%				×10⁴	%				
1	B.H.A.C. (0.05%)	+	−	B	83	100				44.4	53.5	+	++	BBBB	12.0	14.5	+ 濁	+++	BBBB	
2	〃 (0.1 %)	+	−	B	〃	〃				77.5	93.3	+	++	BBBB	25.6	30.8	+	+++	BBBB	
3	〃 (0.5 %)	+	−	B	〃	〃				80.5	97.0	++	+	B	74.2	89.4	++	++	B B B	5
4	〃 (1 %)	+	−	B B	〃	〃				83	100.0	++	+	B B	78.9	95.1	++	+	B B	7
5	〃 (5 %)	++	−	B B	78.8	100				77.6	93.5	+++	+	B B	75.3	95.6	+++	+	B B B	7
6	〃 (飼和) (Saturated)	++	−	B B B	74	〃				72.7	98.1	+++	+	B B B	68.0	92.0	+++	+	B B B A	6
7	N.D.G.A. (1 %)	++	−	B	83	〃				83.1	100.1	++++	−	B	77.1	92.9	+++++	±	B	7
8	None	+	−	N	〃	〃				38.9	46.9	+	++	BBBB	10.2	12.2	+ 濁	+++	BBBB	3

See table 1. for symbols and notations other than indicated.

Table. 3 Synergist としてのチオ尿素の効力

Stabilizing effect of thiourea as synergist

番号 No	防酸化剤及び補助剤 Antioxidant and synergist	経過日数 Number of day																
		0			1			4			8			11			1	
		色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタ ン 単位 V.A.
			×10⁴	%		×10⁴	%		×10⁴	%		×10⁴	%		×10⁴	%		×1
1	+B.H.A. (0.5%)		82.2	100	+	82.1	99.9	+	79.9	97.1	++	30.4	37.0	++	8.19	9.95	++	3.1
2	+B.H.A. (0.5%) +T.U. (0.001%)		〃	〃	+	83.3	10.1	+	76.6	93.2	++	32.0	39.0	++	9.75	11.9	++	3.3
3	+B.H.A. (0.5%) +T.U. (0.05%)		〃	〃	+	79.8	97.0	+	79.4	96.2	++	60.6	73.5	++	30.3	36.8	++	11.0
4	+B.H.A. (0.5%) +T.U. (0.5%)		〃	〃	+	80.0	97.2	+	83.2	10.1	++	81.3	99.0	+++	76.2	92.6	+++	62.9
5	+N.D.G.A.(0.5%)		〃	〃	++	80.5	98.0	++++	80.0	97.3	+	13.4	16.3	白濁	3.23	3.93	白濁	—
6	None		〃	〃	+	61.4	74.7	+	10.3	12.5	白濁			白濁	—	—	白濁	—

See table 1 for symbols and notations

の B.H.A. の 効 力

in various concentration

rongly bitter, BBBB=Extremely bitter, A=Acid taste

数 Number of days	10					17					24					88	
残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	臭 O.	味 T.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.
%				×10⁴	%									×10⁴	%		
1.1	白濁	+++	BBBB	2.04	2.46	+	+++		—	—	+	+++	BBBB	—	—	—	—
7.1	白濁	+++	BBBB	2.64	3.18	+	+++		—	—	+	+++	BBBB	—	—	—	—
66.2	+	++	BBBB	17.4	29.8	+濁	++	BBBB	3.16	3.81	白濁	+++	BBBB	—	—	—	—
90.0	++	+	BBBA	67.4	81.2	++	±	BBBB	32.8	39.6	++	++	BBBB	8.6	10.4	—	—
92.7	+++	±	BBBA	67.4	85.6	+++	±	BBB	65.9	83.4	+++	±	BBB	60.8	77.1	7.26	9.21
87.8	+++	±	BBBA	63.1	85.2	+++	±	BBB	63.1	85.2	++++	±	BBBB	63.9	86.3	51.6	69.6
90.0	++++	—	BB	69.1	83.2	+	++	BBB	6.18	7.45	白濁	+++	BBBB	—	—	—	-
4.4	白濁	+++	BBBB	1.7	0.5	+	+++			—	+	+++	BBBB	—	—	—	—

	18			25		
残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.
%		×10⁴	%		×10⁴	%
3.83		—	—			
4.05		—	—			
13.1	白濁	4.06	4.94			
76.5	++	27.5	33.5		3.59	4.42
—		—	—			
		—	—			

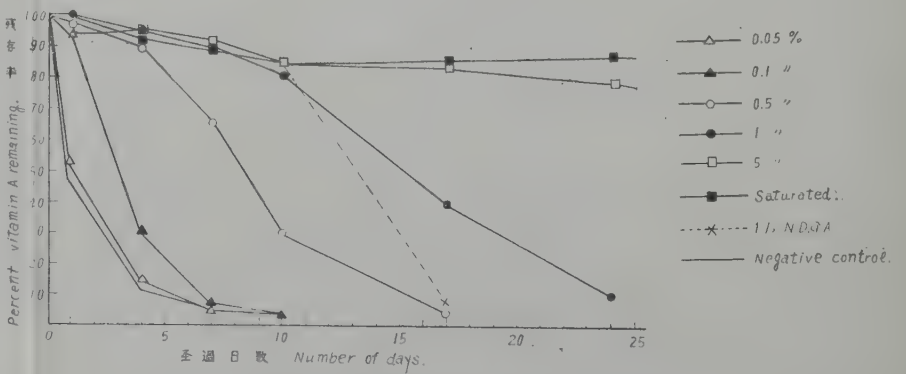


Fig. 4 各種濃度の配合 B.H.A. の効力

Stabilizing effect of B.H.A. compound in various concentrations.

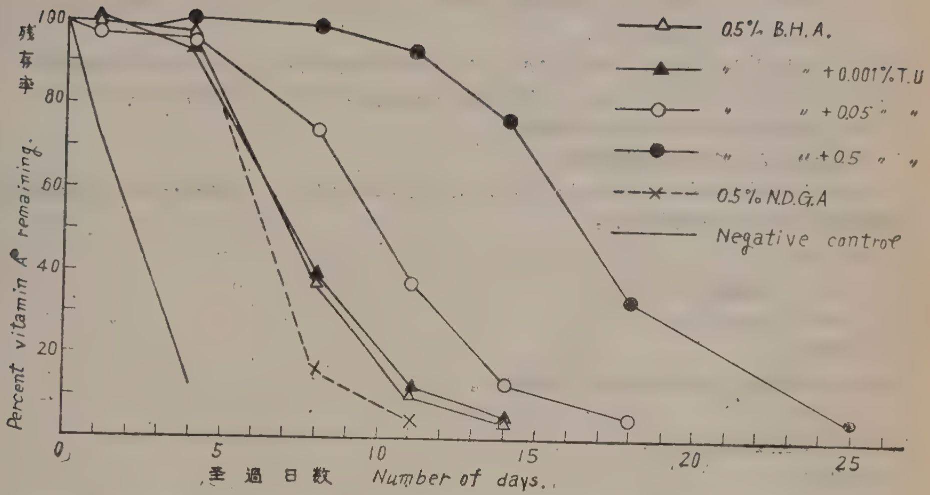


Fig. 6 Synergist としてのチオ尿素の効力
Stailizing effect of thiourea as synergist

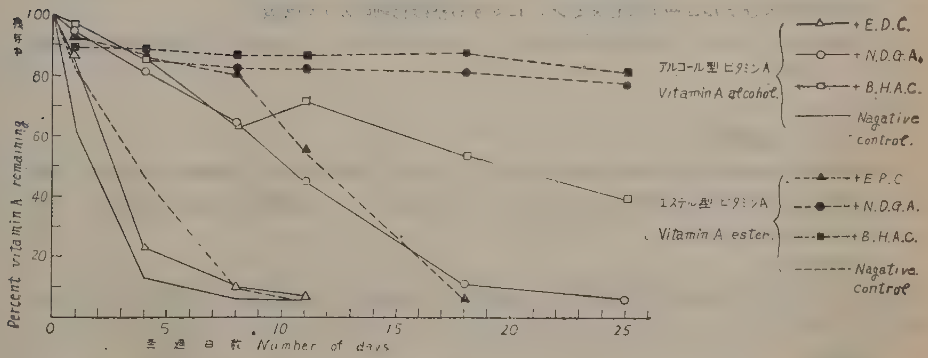


Fig. 7 稀釈アルコール型A及びエステル型Aに対する防酸化剤の効力
Stabilizing effect of antioxidant on diluted vitamin A alcohol and its ester

日数の経過と共に色の濃度が増加するが,色の増加はビタミンAの減少に直接の関係をもたないようである。これに反し N.D.G.A. の場合は色は日数の経過と共に濃くなり,ビタミンAが減少すると共に淡くなる。このことは実験 I に於ても認められた。

B.H.A. の場合も N.D.G.A. の場合もビタミンA が 25% 程度に減少した時から供試油の酸敗臭及び苦味が強く発生する。併し配合 B.H.A. はそれ自体の苦味が強いので 5% 以上添加した場合にはビタミンAの減少と苦味の発生との間の関係が明瞭でない。

III. Synergist としてのチオ尿素の効力

I に於てチオ尿素が優秀なる Synergist であることを述べたが B.H.A. の添加量を一定にしチオ尿素の添加量を変えてその効力を試験した。

試　料

i) ビタミンA濃縮物

I と同様のものを使用した。

ii) 防酸化剤

B.H.A. 及び対照として N.D.G.A. を使用した。

iii) Synergist

I と同じチオ尿素を使用した。

実験方法

I と同様であるが B.H.A. を試料に対し 0.5% の割合に加え,これにチオ尿素を試料に対し 0.001, 0.05, 0.5% の割合に添加した*。なお対照として N.D.G.A. 0.5% 添加及び無添加の試験を行つた。

実験結果

第 3 表及び第 6 図に得られた結果を示す**。

チオ尿素が Synergist であるならば,その添加量が減じても効力はあまり変るまいと考えたが,事実はこれに反し,添加量が少くなると効力も劣つてくる。しかし I 及び II に於て試験した B.H.A., N.D.G.A. 等の防酸化剤の場合は効力は添加量に比例するが,チオ尿素の効力は添加量を減じてもそれ程減少しない。

IV. エステル型及びアルコール型ビタミン A に対する防酸化剤の効力の差異

試料の濃縮ビタミンAがエステル型である場合とアルコール型になつている場合とで防酸化剤の効力が如何に異るかを試験した。

試　料

i) ビタミンA濃縮物

メヌケ肝油より鹸化法によつて得た不鹸化物を脱ステロールして得たビタミンA濃縮物をアルコール型ビタミンA試料(以下アルコール型Aとす)とした。エステル型ビタミンA試料はこれをアセチル化して製した。(以下エステル型Aと略す)。

ii) 防酸化剤

防酸化剤として配合 B.H.A., N.D.G.A., 配合 E.P. を選んだ。これらは総て I に用いたものと全く同じものである。

実験方法

内径 1.3cm, 高さ 4.2cm の小ビーカーにビタミンA試料を 0.5g とり,防酸化剤を 0.005g 添加した。

* チオ尿素は 0.001% 添加した場合は溶けるが 0.05% 及び 0.5% 添加の場合は不溶部を残す。

** この B.H.A. の効果は前掲の結果とはやゝ異るが,この場合の B.H.A. はやゝ吸湿していた懸念があるのでそれが原因かも知れぬ。

Table. 4 アルコール型A及びエス

Stabilizing effect of antioxidauts on v

番号 No.	ビタミンA試料 Vitamin A Sample	防酸化剤 Antioxidant (添加量 Concentration : 1%)	経 0 色 C.	0 ビタミンA単位 V.A.P.	0 残存率 V.A.R.	1 色 C.	1 ビタミンA単位 V.A.P.	1 残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミンA単 V.
				×10⁴	%		×10⁴	%		
1	アルコール型ビタミンA Vitamin A alcohol	+B.H.A.C.		181	100		173	95.6		12
2		+N.D.G.A.		〃	〃		162	89.5		13
3		+E.P.C.		〃	〃		174	96.1		16
4		None		〃	〃		167	92.3		15
5	エステル型ビタミンA VitaminA ester (acetate)	+B.H.A.C.		147	100		148	100.8		14
6		+N.D.G.A.		〃	〃		128	87.1		11
7		+E.P.C.		〃	〃		137	93.2		8
8		None		〃	〃		144	98.0		9
9	椿油稀釈アルコール型ビタミンA Vitamin A alcohol diluted with camellia seed oil	+B.H.A.C.		13.7	100		12.8	97.6	++	1
10		+N.D.G.A.		〃	〃		12.5	95.5	+++	1
11		+E.P.C.		〃	〃		11.4	87.0	+濁	
12		None		〃	〃		8.1	61.8	+白濁	
13	椿油稀釈エステル型ビタミンA Vitamin A ester (acetate) diluted with camellia seed oil	+B.H.A.		12.7	100		11.4	89.7	++	1
14		+N.D.G.A.		〃	〃		11.6	91.5	+++	1
15		+E.P.C.		〃	〃		11.8	93.0	++	1
16		None		〃	〃		10.4	82.0	+	5
17	メヌケ肝油 Rock fish liver oil	+B.H.A.C.		7.0	100		6.4	91.5	++	6
18		+N.D.G.A.		〃	〃		6.45	92.1	++	6
19		+E.P.C.		〃	〃		6.88	98.5	++	6
20		None		〃	〃		6.49	92.8	++	6

See table 1 for symbols and notations

ル型Aに対する防酸化剤の効力

min A alcohol and its ester

過	日		数	Nnmber of days									
4		8			11			18			25		
ミ A P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミン A 単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミン A 単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミン A 単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.	色 C.	ビタミン A 単位 V.A.P.	残存率 V.A.R.
$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%		$\times 10^4$	%
5	66.5		133	73.5		117	64.7		111	61.3		103.5	57.2
	76.3		154	85.0		136	75.2		126	69.7		121	67
	90.6		157	86.8		131	72.4		127	69.9		119.5	66
5	88.2		152	84.0		135	74.6		113	70.1		118	65.2
	96.0		139	94.6		134	91.1		113	77.0		90.0	61.2
5	79.3		67.8	46.2		73.6	50.0		62.0	42.2		58.0	39.4
6	60.3		75.1	51.1		65.5	44.6		57.1	38.8		58.0	39.4
5	65.7		73.1	49.8		66.0	44.9		56.0	38.1		59.8	40.7
2	85.5	++	8.3	63.4	++	9.37	71.6	++	7.12	54.4	++	5.22	39.8
7	81.7	++++	8.52	65.0	++ 濁	5.92	45.2	++ 濁	1.45	11.1	白濁	0.812	6.2
3	23.1	+ 白濁	1.34	10.2	+ 濁	0.83	6.34	白濁	—	—	白濁	—	—
71	13.1	+ 濁	0.86	6.56	+ 濁	0.75	5.72	白濁	—	—	白濁	—	—
3	89.0	++	11.1	87.5	++	11.1	87.5	++	11.2	88.2	++	11.0	81.6
8	85.0	++++	10.6	83.5	+++	10.7	83.5	+++	10.3	81.5	+++	9.86	77.7
9	85.9	++	10.3	81.1	++	7.0	55.9	+ 濁	0.72	5.71	白濁	—	—
85	46.1	白濁	1.28	10.1	白濁	0.61	4.80	白濁	—	—	白濁	—	—
7	95.8	+++	6.28	97.5	+++	7.05	100.8	+++	6.41	91.7	++	5.95	85
8	97.2	++ 濁	6.92	98.9	+++ 濁	6.90	98.6	+++	6.72	96.0	++	6.01	86
7	95.8	+++	6.76	9.66	++	6.90	98.6	+++	6.51	93.0	++	5.88	84
3	90.1	+++	5.87	83.9	++	3.61	51.6	+	0.46	6.57	+	—	—

温度やビタミンA測定法等は I と同様である。

アルコール型Aの粘度か高いためエステル型ビタミンAと直接比較するには適当でないように思えたのでアルコール型及びエステル型試料を椿油で薄めたものについても試験した。

実験結果

第4表及び第7図に結果を示す。

表より見ると，アルコール型A及びエステル型Aは一定期間後安定となり防酸化剤の効力がよくあらわれていない。

この理由はアルコール型ビタミンA試料をそのまゝ使用した場合は酸化により表面の粘度が極めて高くなり，一種の膜を作つて其の後の酸素の浸入を防害すると酸化は表面よりのみ行われ，無添加対照もビタミンAが 70% 程度になると其の後はあまり単位が低下しなくなり，かつ，防酸化剤添加の効力が現れないものと考える。エステル型ビタミンA試料はアセチル化の結果やゝ粘度が低くなるため，最初のビタミンAの減少はやゝ著しいが，ビタミンA残存率が 40% 程度になる頃よりアルコール型ビタミンA試料と同様な現象が起つてビタミンAは安定となる。

結局アルコール型及びエステル型ビタミンAの直接の比較ではアルコール型の方が安定のように見えるが上述の現象が起るのでこの比較は適当でない。

これに反し椿油で薄めたアルコール型及びエステル型Aはこのような現象を起さぬから，もし椿油中の天然防酸化剤がアルコール型A又はエステル型のいずれか一つに特に強く作用することがないと仮定すれば防酸化剤の効力を正しく見ることが出来るので，これについて次に述べる。

i） アルコール型とエステル型ではエステル型Aの方が安定である。

ii） 配合 B.H.A. はアルコール型A，エステル型A のいずれに対しても効力が最もあり，エステル型Aを 25 日間殆ど安定に保つことが出来た。

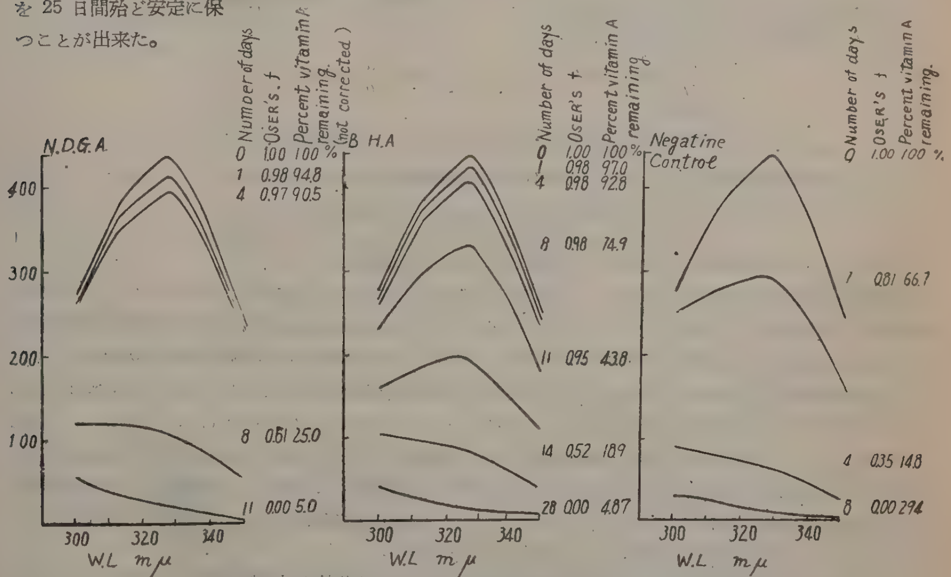


Fig. 8 残存率と紫外部吸収曲線及び OSER 補正率との関係

Relation between percent vitamin A remaining, absorption curve and OSER's factor

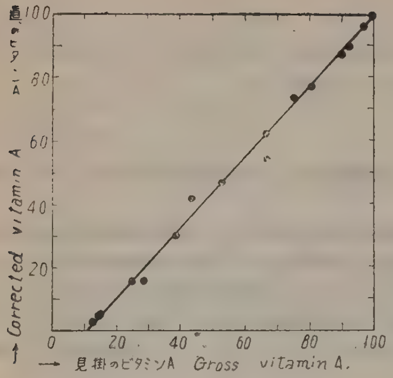


Fig. 9 見掛のビタミンAと真のビタミンAとの関係

Relation between gross and corrected vitamin A.

iii) N.D.G.A. は B.H.A. より効力はやゝ劣つていた。

iv) 配合 E.P. は最も効力少く，エステル型Aについてはやゝ効果があるが，アルコール型Aに対しては殆ど効果がなかつた。

考　察

実験の部に於てはビタミンA濃度を示すのに吸光係数より計算した見掛の値を用いたが，酸化に伴うビタミンAの紫外部吸収曲線の変化は第8図の如くで，相当酸化の進んだ処では真のビタミンAは見掛の値より遙かに低いものと思われる。見掛の値を用いて以下の考察をするのは合理的でないので，Oser 補正を行つた値を仮に真の値とした。我々の実験に於ては見掛の値と Oser 補正を行つた値との間に第9図に示す如き直線関係が成立したので計算を行わずとも図より容易に真A量を求め得る。

この図より求めたビタミンA濃度を用いてビタミンAの酸化状況を数式を以て表わして見た。

ビタミンA濃縮物中のビタミンA濃度を x とし $t=0$ に於ける x を x_0 とする。

x の減少速度 $-\frac{dx}{dt}$ は x に比例すると共に，試料中に存在する酸化促進触媒の量にも比例するものとする。試料中に初めから存在する触媒量を a，ビタミンAの酸化により生ずる触媒量を $b(x_0-x)$ とし，仮に a, b, を恒数とすれば次式が成立する。

$$-\frac{dx}{dt}=kx\left[a+b\ (x_0-x)\right]\quad =kbx\left(\frac{a}{b}+x_0-x\right) \quad\cdots\cdots(1)$$

$$kb=K,\ \frac{a}{b}+x_0=c \quad \text{とおけば} \quad -\frac{dx}{dt}=Kx(c-x) \quad\cdots\cdots(2)$$

(2) を $t=0$ の時，$x=x_0$ なる条件を入れて解けば

$$\log\frac{x}{c-x}=\log\frac{x_0}{c-x_0}-Kct \quad\cdots\cdots(3)$$

実験 I，II，の結果をこの式を用いて，第10，11図に直線を以て示す。

防酸化剤が如何なる機構によりビタミンAの酸化を防止するかは我々の実験からでは判らないが，防酸化剤のきゝ方が種類によつて同じでないことはこの図よりも明らかである。この図に於て防酸化剤の効力を定めるのに $\log\frac{x_0}{c-x_0}$ の大きさと直線の傾斜の二つが関係している。第11図に示す如く同一の防酸化剤にあつても添加量が多くなるに従い，$\log\frac{x_0}{c-x_0}$ は大となり直線の傾斜は緩かとなるが，このことを考慮に入れても，第10図に示す防酸化剤のきゝ方に二つの型があることが判る。即ち N.D.G.A.，P.G.，I.G. 等は $\log\frac{x}{c-x_0}$ の大さに比し直線の傾斜が急であり，B.H.A.，E.P. 等はこの逆である。この原因は N.D.G.A. 等は酸化の初期に強く防酸化の効力を示すが，比較的速やかに失うか或は酸化の初期に存在する酸化促進触媒の効力を抑える力が，酸化の終期に生じてくる酸化促進触媒の効力を抑える力より小さいのに対し B.H.A. 等が逆の傾向を有することを示すと考えられる。

なお，B.H.A. が N.D.G.A に優る防酸化効力を示すことは小川等[2]及び勝井等[1]の研究などにも見られ，更らに勝井のデーターには N.D.G.A. の方が B.H.A. よりも急激に効力を失う傾向があることも示さ

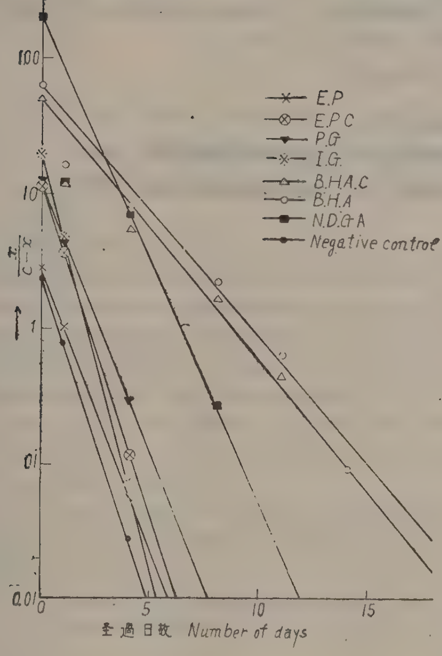


Fig. 10

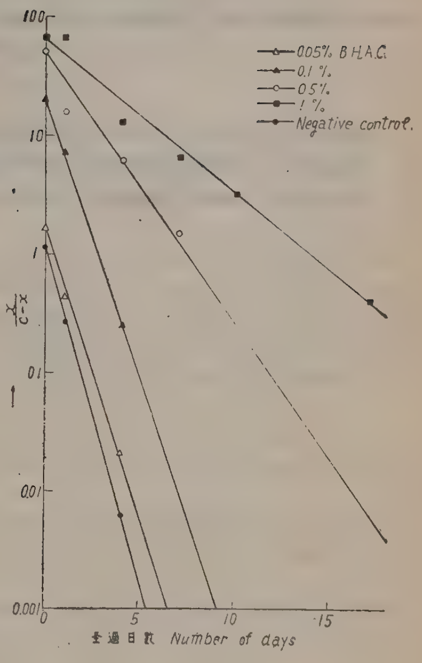


Fig. 11

れている。又小川等[3]は我々の実験同様，E.P. 及び Gallate 類が従来の結果と異り防酸化効力の劣ることを認め，その原因として試験方法に関係する防酸機構の相違を挙げたが，小川等も高単位のビタミンA試料を用いているところより見ると，普通低単位のビタミンAを用いて行われた従来の結果と異る結果を得たのは試験法よりもむしろ試料の差異に関係する防酸化機構の違いが原因のように思われる。

摘　　要

市販防酸化剤の効力を調べ次の結果を得た。

i） ビタミンA濃縮物に対する防酸化効力は B.H.A. 最も強く，配合 B.H.A.，N.D.G.A. がこれに次ぐ。Propyl gallate は弱く，Ethyl protocatechuate、配合 E.P.，Isoamyl gallate の効力は殆どなかつた。

ii） チオ尿素は Synergist として非常な効果を示し，従来知られたクエン酸に優つていた。

iii） 配合 B.H.A. に於ては効力は濃度にほゞ比例する。

iv） 防酸化剤の種類により試料の呈色，臭，味とビタミンAの減少との間に関係がある。

v） メヌケ肝油より得たアルコール型A試料，エステル型A試料を比較した。安定性はエステル型Aの方が強く，エステルA型に対しては配合 B.H.A. と N.D.G.A. はほゞ同様の効力を示し，配合 E.P. もかなりの効力を示したが，アルコール型Aに対しては配合 B.H.A. は相当の効力があつたが，N.D.G.A.

はこれより劣り，配合 E.P. は殆ど効力がなかつた。

最後に終始御指導を賜つた東秀雄博士並びに有益なる御助言をいたゞいた源生一太郎所長に厚く感謝致します。

文　献

1) 勝井五一郎，久山　宏：ビタミン 6, 75 (1953)
2) 小川俊太郎，太幡利一，塚本秀子：第 27 回脂溶性ビタミン総合研究委員会講演 (1954)
3) 小川俊太郎，太幡利一，塚本秀子：第 28 回脂溶性ビタミン総合研究委員会講演 (1954)

塩乾品の油焼に於ける脂質の変化

東　秀雄・村山繁雄・簗瀬正明・田部井菊子
（東海区水産研究所）

Studies on the Variation of Lipid in Discoloration of Salted and Drid Fish

Hideo HIGASHI, Shigeo MURAYAMA, Masaaki YANASE and Kikuko TABEI

Two fillets which had similar properties to each other as shown in Table 1 were prepared from several samples of Mackerel for the present study. One fillet of the sample was protected from rusting by treating with Butyl-hydroxyanisol (B.H.A.) as antioxidant and with NaCl before drying and the other, control, salted without antioxydant, then dried. When standing for 6~23 days after drying, each fillet was separated to three layers: inner surface, skin layer and interior layer between them, of which to examine lipids.

From the results represented in Tables 3~8, the following facts have been revealed.

1) When salted dried fish is disolored, the lipids transfer from the skin layer to the inner surface (Fig. 1, Tables 7, 8).

2) Lipids of the inner surface of dried fish which has been discolored is remarkably deteriorated, whereas lipids of the interior layer or the skin layer do not suffer so much variation (Tables 3~6).

3) It seems that during the discoloration of dried fish various conjugated double bonds are formed in fatty acids of the surface lipids due to the transition of their proper double bonds (Figs. 2, 3).

緒　　言

魚類から製造した素乾品，煮乾品，塩乾品等が貯蔵中酸化し，製品の表面の油脂が鮮明な黄赤色或は赤褐色となる現象を油焼という。油焼を起したこれらの製品は食味，外見が劣るのでこれらの製品の油焼防止は水産加工上一つの大きな問題となつている。

油焼を防止する為には製品を酸化しない状態で貯蔵するか，或は製造の際に適当な防酸化剤を使用すれば略その目的を達することは従来から知られている。

今迄これらの油焼防止手段が産業的に広く行われなかつたのは主に経済的の理由からである。併し近来食品に使用できる有効な防酸化剤が数種類市販されるに及んで，これらを使用し，油焼防止に効果を上げて居り[1)2)]，又包装材料についても合成品が比較的安価に供給され，包装によつても油焼防止が出来る見込もある。

一方油焼の本態に関する研究は油焼防止に関聯して重要な課題であるが，この方面の研究には魚油或は，魚油成分の着色機構に関した研究が多く[3)]油焼した水産製品を材料とした研究は少い。魚体から分離した魚油或は油脂成分をある特定の条件で酸化し着色せしめ，この着色物質の本体或は着色機構を研究し，それらの結果から水産製品の油焼の際の油の着色の本体，機構を類推することも確かに一つの行き方であろう。併し著者等はこれらの研究とは違つた見地から油焼を研究することにした。即ち油脂の酸化はその酸化条件によりその生成物が著しく異るべく従つて油焼の際の油の着色体について研究する場合は一応は油焼した水産製品の表面の鮮明な黄赤色或は赤褐色の油自体について吟味する必要があると考え，先づ油焼製品の表面の

1954 年 12 月 4 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 187 号（印刷費負担）

鮮明な着色油の生成過程を水産製品について調査することにした。

試験材料

A　試験用干物の製造

試験材料として新鮮な鯖を用い，これより塩乾品を製造した。鯖を夫々三枚におろし，背骨を除いた一尾の二つの片身を一方はそのまゝ干物を製し，他方は防酸化剤を用いて干物を製した。干物の製法は常法通り原料肉片をよく水洗せる後，肉片に対し2倍量の 15 %食塩水に一夜浸漬し，軽く水洗して皮側を下にして二日間日乾した。

防酸化剤としては Butyl-hydroxy anisole （以下 B.H.A. と略す）を使用した。B.H.A. を使用する場合は魚肉の2倍量の 15 %食塩水に B.H.A. のアルコール溶液少量を加えて B.H.A. が食塩水に対し 0.01%を含有する如くし，これを浸漬液とした。

B　干物の上表部，内層部，皮部の脂質の抽出

干物の皮の部分を皮部，皮と反対側の表の部を上表部，両者の中間の部分を内層部とする。

鋭利な剃刀を用いて干物の上表部を薄層に削り，ついで皮部をはがし取り，上表部，皮部を採った残りを内層部の試料とする。各部に夫々無水硫酸ソーダを加えて磨砕し，エーテルで脂質を抽出した。

実験の部

I　予備実験

(A)　同一魚の左右肉片中の脂質の性質比較

防酸化剤を使用した場合としない場合との脂質の相違を吟味する時，同一魚の左右の肉片の脂質の性状が略々同様でなければ防酸化剤の影響を正確に知ることが出来ないので先づ同一魚の左右両方の各脂質の性状を吟味することにした。即ち鯖3尾を三枚におろし左右の身片について各別に常法通り無水硫酸ソーダで脱水し，エーテルを用いて脂質を抽出した。3尾の左右肉片の脂質の性状は第1表の如くである。

第1表　鯖左右肉片の脂質の性状

Table 1.　Properties of lipids in mackerel fillets.

魚体番号 Number of fish	1		2		3	
肉片 Fillet	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side
含油量 Oil content	4.22	4.26	3.25	2.91	3.27	3.75
酸価 Acid value	9.9	10.1	9.6	11.4	12.6	11.0
沃素価 Iodine value	181	180	174	172	166	164
鹸化価 Saponification value	193.6	195.1	199.1	193.4	186.8	189.0
屈折率 Refractive index N^{43}_D	1.4700	1.4700	1.4727	1.4710	1.4707	1.4710

第1表に見る如く同一個体の左右肉片の脂質の性状は近似して居り，その差異は個体間の差異に較べれば遥かに小さく，同一魚の左右二つの肉片を用うれば油焼した製品の脂質の比較が出来る。

(B)　同一肉片の上表部，内層部，皮部の脂質の沃素価比較

油焼の過程に於て干物の脂質を上表部，内層部，皮部に分けて吟味する場合原料肉片中の上表部，内層部皮部の性状が異るときは油焼による各部の脂質の影響を正確に知ることが出来ない。そこで鯖1尾の片身について，これを鋭利なる剃刀を使用して上表部，内層部，皮部に分離し，その各々より油を抽出してこれらの含油量及び沃素価を測定した。

第2表　鯖同一肉片各部の含油量及び沃素価

Table 2. Oil content and iodine value in various parts of mackerel fillet.

部　分 Layer	上表部 Inner surface	内層部 Interior	皮部 Skin
含油量 Oil content %	4.9	3.6	18.8
沃素価 Iodine value	143.5	142	142

第2表に見る如く，供試鯖の生肉に於てはその上表部，内層部及び皮部より得た脂質の含油量は異るが，沃素価は近似している従つて油焼過程に於て干物各部の沃素価に差を認めれば，その差は酸化その他の原因により生じたものと認めて差支えない。[*1]

II　油焼による干物各部の脂質の変化

鯖を用い，上述の方法により同一魚の左右肉片より一片は B.H.A. を使用し，他方は B.H.A. を使用せずして2日間日乾干物を製した。B.H.A. を使用した方を B.H.A. 区，使用しない方を対照区とする。日乾後室内に保存し所定の日数を経過せる時対応する両区の試料を採つて試験した。貯蔵日数6日，11日，16日及び 23 日に両試験区より対応せる1片づゝを採り上表部，内層部，皮部の脂質を抽出し，その性状を比較した。これらの試料中6日及び 11 日の試料は同日に購入し，製造したものであるが．16日及び 22 日の試料は6日及び 11 日の試料とは異る日に購入し，製造したものである。日乾後6日の試料についての結果を第3表，11日の結果を第4表，16日の結果を第5表，23日の結果を第6表に示す。

第3表　油焼による鯖干物各部の脂質の変化（貯蔵日数6日）

Table 3. Properties of lipids in salted dried fillets of mackerel (on 6th day after drying).

部分 Layer	上表部 Inner surface		内層部 Interior		皮部 Skin	
肉片 Fillet	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side
処理 Treatment	B.H.A. 区 Treated with B.H.A.	対照区 Control	B.H.A. 区 Treated with B.H.A.	対照区 Control	B.H.A. 区 Treated with B.H.A.	対照区 Control
酸価 Acid value	1.6	3.8	2.7	1.4	0.2	0.7
沃素価 Iodine value	133.1	121.8	135.3	126.3	131.6	131.2
鹸化価 Saponification value	181.0	200.3	189.7	185.1	194.3	194.8
屈折率 Refractive index N_D^{40}	1.4699	1.4715	1.4702	1.4700	1.4699	1.4698
過酸化物価[*2] Peroxide value(M.E.)	81	418	41	47	38	76
色 Colour	淡褐 light brown	淡赤褐 light reddish brown	淡黄 light yellow	黄 yellow	淡黄 light yellow	黄褐 yellowish brown
備考 Remarks		やゝ油焼 discoloration showing slight rusting				

[*1] 含油量の多い大羽鰮等では皮下脂肪と内層部の油とはかなり沃素価が異ることがあるが，著者等の供試料とした鯖では各部の脂質の沃素価の差は少かつた

[*2] Figares indicates milliequivalent of peroxiole per kilogram of fat according to Fugger et all: J. Am. Oil Chem. Soc., 28, 285 (1951)

第4表　油焼による鯖干物各部の脂質の変化（貯蔵日数 11 日）

Table 4. Properties of lipids in salted-dried fillets of mackerel (on 11th day after drying).

部 分 Layer	上 表 部 Inner surface		内 層 部 Interior		皮 部 Skin	
肉 片 Fillet	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side
処 理 Treatment	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対 照 Control	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対 照 Control	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対 照 Control
酸 価 Acid value	3.4	8.2	5.3	7.1	2.7	3.5
沃 素 価 Iodine value	129	106	127	129	131	132
鹼 化 価 Saponification value	192.7	207	191	190.5	197	194.3
屈 折 率 Refractive Index N_D^{40}	1.4693	1.4720	1.4698	1.4700	1.4690	1.4700
過 酸 化 物 価 Peroxide value	61	555	12	41	42	44
色 Colour	淡 黄 light yellow	赤 褐 reddish brown	黄 褐 yellowish brown	黄 褐 yellowish brown	淡 淡 黄 light yellow-ish brown	褐 淡 黄 light yellow-ish brown
備 考 Remarks		油 焼 discoloration showing rusting				

第5表　油焼による鯖干物各部の脂質の性状（貯蔵日数 16 日）

Table 5. Properties of lipids in salted-dried fillets of mackerel (on 16 th day after drying).

部 分 Layer	上 表 部 Inner surface		内 層 部 Interior		皮 部 Skin	
肉 片 Fillet	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side
処 理 Treatment	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対 照 Control	B.H.A区. Treated with B.H.A.	対 照 Control	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対 照 Control
酸 価 Acid value	8.2	9.8	32	31	6.8	4.5
沃 素 価 Iodine value	153.6	144.7	141.2	145.0	159.5	156.6
鹼 化 価 Saponification value	214.2	226.8	209.9	200.7	216.2	208.6
屈 折 率 Refractive index N_D^{40}	1.4743	1.4760	1.4775	1.4760	1.4734	1.4739
過 酸 化 物 価 Peroxide value	91	290	59	131	64	89
色 Colour	淡 褐 light brown	赤 褐 reddish brown	濃 褐 dark brown	濃 褐 dark brown	褐 brown	褐 brown
備 考 Remarks		油 焼 discoloration showing rusting				

第6表 油焼による鯖干物各部の脂質の変化（貯蔵日数 23 日）

Table 6. Properties of lipids in salted drid fillets of mackerel (on 23rd day after drying).

部分 Layer	上表部 Inner surface		内層部 Interior		皮部 Skin	
肉片 Fillet	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side	左 Left side	右 Right side
処理 Treatment	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対照区 Control	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対照区 Control	B.H.A.区 Treated with B.H.A.	対照区 Control
酸価 Acid value	4.9	7.4	24.6	30.5	6.4	6.4
沃素価 Iodine value	152.3	117.2	154.8	156.1	156.0	156.2
鹸化価 Saponification value	187.2	221.5	200	195	193	198.8
屈折率 Refractive index N_D^{40}	1.4751	1.4790	1.4770	1.4770	1.4725	1.4740
過酸化物価 Peroxide value	47	610	18	68	22	34
色 Colour	赤褐 reddish brown	赤褐 reddish brown	濃褐 dark brown	濃褐 dark brown	褐 brown	褐 brown
備考 Ramarks	やゝ油焼 discoloration showing slight rusting	著しく油焼 discoloration showing advanced rusting				

第3表～第6表によれば対照区の干物は貯蔵日数6日以上のものはいずれも顕著な油焼を起しているが，B.H.A. 区の干物では6日，11日，16日のものは油焼を呈さず 28 日のもののみ油焼を起している。上表部の脂質は B.H.A. 区と対照区とで理化学的性質に大きい差異が見られる。即ち対照区の上表部の脂質の過酸化物価は著しく大で，沃素価は低く，鹸化価・酸価・屈折率は高い。ここに注目すべきことは 23 日目の B.H.A. 区の試料は油焼はしていても上表部の脂質の過酸化物価は対照区に比し著しく低いことである。食味及び，栄養的見地からすれば製品の外観的油焼を防止するのみならず，脂質の変敗（例えば過酸化物価の上昇等）をも可及的に防止する防酸化剤が食品の油焼防止剤として適当といえる。

油焼した干物の上表部から抽出した脂質は，油焼した干物の表面に浮いた脂質と殆ど同様な鮮明な赤褐色を呈する。同日の試料魚より製造した干物では貯蔵日数の多い程酸化が進み，油焼も顕著である。

一方内層部の脂質は B.H.A. 区と対照区とで著しい性状の差異はない。

貯蔵日数 16 日及び 23 日の干物に於ては内層部の脂質は上表部の脂質に比し著しく高い酸価を示して居り，内層部の脂質が反つて高い酸価を示すことは一見奇異の感を抱かせるが，この原因としては各部のリパーゼの活性の差が考えられる。一般にリパーゼは酸化により活性が弱められる事が知られている。[4] 上表部のリパーゼは酸化により不活性化され，内層部のリパーゼは酸化されない為，活性が存続したのではないかと考えるが，この事についての吟味は後の機会に譲る。

皮部の脂質は B.H.A. 区，対照区共に油焼による影響を受けることが最も少い。これは皮部組織の性状より考えて当然のことであろう。

II 干物中の脂質の分布

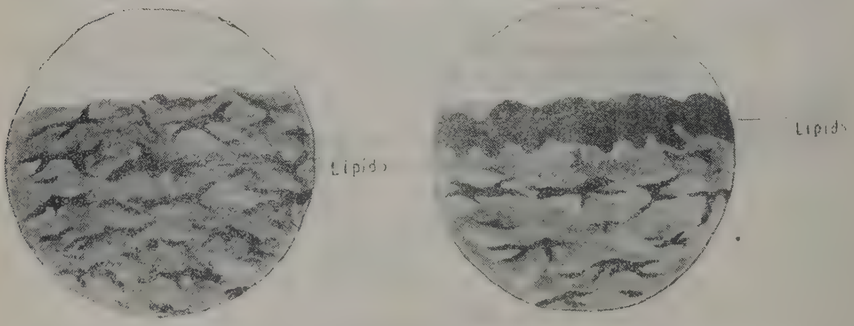
実験IIに於ける干物の上表部，内層部，皮部の含油量を表示すれば第7表の如くである。

第7表より脂質総量を 100 として上表部，内層部，皮部に於ける脂質の分布を計算すると第8表の如くになる。

第7表　鯖干物各部の重量及び含油率

Table 7. The weight and oil content in various parts of fillets.

魚体番号 Number of fish	肉片 Fillets / 部分 Layer	B.H.A.区 Treated with B.H.A. 重量 Weight (g)	B.H.A.区 Treated with B.H.A. 含油量 Oil content (%)	対照区 Control 重量 Weight (g)	対照区 Control 含油量 Oil content (%)	貯蔵日数 Number of day after drying
A	上表部 Inner surface	14.5	29.7	17.0	29.9	6 days
	内層部 Interior	49.1	18.4	57.9	15.6	
	皮部 Skin	43.9	48.0	45.5	48.0	
B	上表部 Inner surface	6.6	23.3	4.4	38.1	11 days
	内層部 Interior	36.1	14.8	32.1	12.5	
	皮部 Skin	29.4	78.1	27.9	53.9	
C	上表部 Inner surface	14.0	8.8	15.2	13.2	16 days
	内層部 Interior	69.3	1.9	81.5	2.2	
	皮部 Skin	34.1	21.1	30.5	22.9	
D	上表部 Inner surface	6.7	16.4	6.9		23 days
	内層部 Interior	50.3	2.9	49.5	3.2	
	皮部 Skin	25.1	31.2	26.3	28.7	



B.H.A. 区
Treated with B.H.A
(油焼しないもの)　日乾後 11 目日
(non discolorated)　On 11th day after drying

対照区
Control
(油焼したもの)
(discolorated)

第1図　鯖干物の切片

Fig. 1. Transverse section of salted-dried fillets of mackerel (×80)

第8表 鯖干物各部の脂質の分布

Table 8. Distribution of lipids in various parts of dried mackerels.

魚体番号 Number of fish	肉片 Fillets / 部分 Layer	B.H.A. 区 Treated with B.H.A.	対照区 Control	貯蔵日数 Number of day after drying
		脂質の分布 Distribution of lipids (%)		
A	上表部 Inner surface	12.1	14.1	6 days
	内層部 Interior	25.6	25.2	
	皮部 Skin	62.3	60.7	
B	上表部 Inner surface	6.3	8.1	11 days
	内層部 Interior	17.6	19.6	
	皮部 Skin	76.1	72.3	
C	上表部 Inner surface	12.1	18.9	16 days
	内層部 Interior	15.2	15.3	
	皮部 Skin	72.7	65.8	
D	上表部 Inner surface	10.4		23 days
	内層部 Interior	14.3		
	皮部 Skin	75.3		

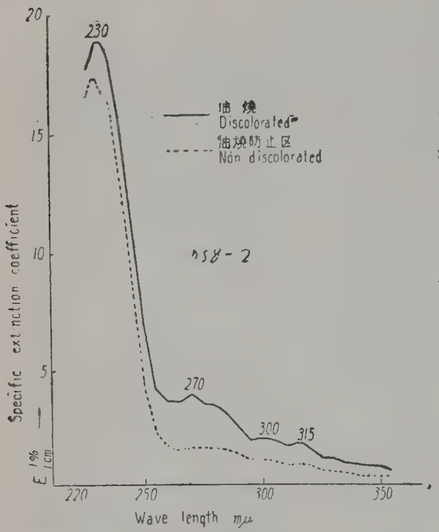
第7表及び第8表に見る如く対照区の干物はB.H.A.区の干物に比し上表部の含油量は増加し，皮部の含油量は減少している。宛も油焼した干物では脂質が皮部より上表部に移動した様な分布を示す。油焼した干物に於て内層部の油が上層部え移動している状態は次の顕微鏡的観察によつても確められた。即ち貯蔵日数11日の試料につき対照区とB.H.A.区の肉片の縦断面の氷結切片をつくりスダンⅢで染色し顕微鏡下で観察すれば第1図B.H.A.区（油焼しないもの）及び対照区（油焼したもの）の如くで，油焼した干物は上表部の表面に著しい脂質の浮上が見られる。

Ⅳ 油焼による脂質の紫外部吸収の変化

貯蔵日数11日におけるB.H.A.区の干物と対照区の干物の上表部の脂質を同様の条件で鹼化して脂肪酸及び不鹼化物の混合物を得た。それらの紫外部の吸収曲線を第2図に示す。

第2図に於て見る如く対照区の方が吸収が大で，而も230，270，300，315，mμ に明らかな極大が認められるが，B.H.A.区では230 mμ 以外のものは極大が顕著でない。対照区の吸収よりB.H.A.区の吸収を差引いてその差を図示すれば第3図の如くである。第3図によれば230,240，250，270，300～305,310～315，325～330，345 mμ に極大が認められる。

従来の研究によれば[5]，共軛二重結合を有する脂肪酸は紫外部の特定の位置に吸収極大を有し，Dieneは240mμ，Trieneは230, 270, Tetraeneは230，270，300，315, Pentaeneは230，270，300，315，346 mμ に著明な吸収を有することが知られている。これらの極大と第3図に示された極大とを比較すると240,250，330，345 mμ については文献にないが他は両者よく一致している。これから考えれば油焼した脂肪酸中に

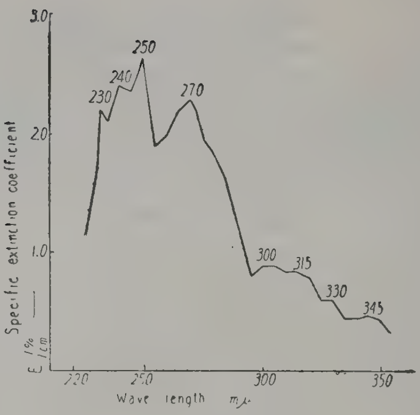


第 2 図　干物上表部脂質の混合脂肪酸の紫外部吸収スペクトル

油焼した鯖肉片の上表部脂質の混合脂肪酸と油焼しないものの吸光係数と波長との関係

Fig. 2. Ultraviolet absorption spectra for mixed fatty acids of inner surface lipids in dried fish.

Specific extinction cofficient vs. wave lenghth for mixd fatty acid of inner surface lipids in discolorated and non discolorated fillets.



第 3 図　第 2 図に於ける吸光係数の差

油焼したものとしない鯖肉の上表部脂質の混合脂肪酸の吸光係数の差

Fig. 3. Difference of extinction cofficient as in Fig. 2.

Difference of specific extinction cofficient vs. wave length for mixed fatty acids of inner surface lipids in discolorated and non discolorated fillets of mackerel

は Diene, Triene, Tetraene, Pentaene 等の共軛脂肪酸が生成していることがうかがわれる。

著者等の高度不飽和酸の酸化に関する研究に於て高度不飽和酸メチルエステルを室温に数日間放置し自動酸化せしめた場合のヂエン価測定結果は第 9 表の如くで，酸化の初期に於てヂエン価が上昇し二重結合が移動し共軛形が生成する事を示している。

従つて酸化した干物上表部の脂質に共軛形の存在することは殆ど間違いないと考える。

第 9 表　酸化した高度不飽和酸メチルエステルのヂエン価（高度不飽和酸メチルエステルを室温で自動酸化せしめた）

Table 9. Diene value of oxidized esters of highly unsaturated fatty acid (Methyl esters of highly unsaturated fatty acid is autoxidized at the room temperature).

酸化日数 Days of autoxidation	ヂエン価 Diene value
7	0.05
14	1.36
21	2.86
28	0

考　　察

油焼を顕著に起した干物では上表部の脂質は著しく酸化しているが内層部，皮部の脂質は余り酸化されていない。これは蛋白質被膜により内部の脂質の酸化が防止されるためであろう。

油焼した干物の脂質の酸化様式，着色機構を研究するには試料として油焼した干物の表面に浮いた着色せる脂質のみを採取することが望ましいが，浮上した脂質のみをかきとることは困難であつたから，次善の方法として干物の上表部を剝離しこれより脂質を抽出した。この上表部の脂質の色相は問題とする表面の着色した浮上油に近似している。

上表部の脂質は，表面に浮上した油に若干の内部の脂質が混在するがその性質を検討することにより油焼の本態の性質を察知出来ると考えた。対照区の油焼した干物の上表部の脂質が過酸化物価の激増，沃素価の

低下，鹼化価の増大を示すと共にその脂質に Diene, Triene, Tetraene, Pentaene 等の共軛二重結合の生成が認められることは油焼による着色機構を研究する際の一つの資料となし得ると思う。共軛構造は必ずしも着色物中に存在するとは限らぬが，油焼した油の粘性（ネトック感じ）等の性質はこれら共軛形に起因する重合と関係があると思う。

又 B.H.A. 区の油焼したものでは上表部の脂質は油焼特有の色調を呈するが，過酸化物価はそれ程高くない。從つて油焼程度を表現する手段として過酸化物価を定量する方法は適当でない。

酸化した脂質の毒性は主に過酸化物構造であることが確認されているから，単に油焼を遅延せしめる如き防酸化剤よりも過酸化物生成を一層抑制する防酸化剤を選ぶべきであろう。

油焼した干物に於て脂質が皮部より上表部に移動する理由は，酸化により脂質に変化が起り，この変化した脂質中のある成分が干物の肉組織に影響を与えて製品内部の脂質が表面に移動するものか或は酸化により直接肉組織が変化して脂質が上表部に移動し易くなるものか不明であるが，これらの点は今後の研究問題であろう。

水産製品の油焼防止には一般に油の防酸化剤を使用することが専ら研究されているが防酸化剤の使用量を更に小量ならしめ且つ油焼発現を更に長期に亘り防止するには単に油の防酸化剤の使用のみならず，肉組織の変質防止等の研究も必要であろう。又内部の肉組織中のリパーゼの不活性化等の研究も食味改善の上から取り上げてよい問題であろう。

摘　　要

鯖の塩乾品を試験材料として一は油焼を生ぜしめ，他は B.H.A. で油焼を防止し，油焼に於ける脂質の変化を比較検討して次の結果を得た。

1. 油焼を起した塩乾品では，脂質は皮部から上表部え移行する。

2. 油焼した製品に於ても，上表部の脂質のみが酸化せられ，内部の脂質は殆ど酸化されていない。

3. 油焼した製品の上表部の脂質は鮮明な黄赤色，赤褐色を有し，過酸化物価の激増，沃素価の低下，鹼化価，屈折率の増加を示す。又脂質中に二重結合の移動が起り Diene, Triene, Tetraene, Pentaene 等の共軛形が生成されている。

4. B.H.A. 処理した製品が油焼を呈する場合には上表部の着色した脂質もそれ程大なる過酸化物価を示さない。

5. 干物の酸化した脂質は有害な過酸化物の生成が著しい。油焼の発現を防止すると共に過酸化物の生成を抑制する力の強い防酸化剤を選択することが，食味の上からも栄養上からも必要である。

6. 油焼防止には単に油の防酸化剤の使用のみならず，製品の肉組織を安定化すること，内部のリパーゼを不活性化する等の研究が製品改良の上からも必要であることを示唆した。

文　　献

1) 尾谷，高柳，松橋：日水誌，**19**，947（1954）.

2) 猿谷，外山，安藤：日水誌，**20**，58（1954）.

3) 大谷，野中：日水誌，**7**，27（1938）.
野中，水野：日水誌，**14**，105（1948）.
小幡，星，松浦：日水誌，**15** 412（1949）.
小幡，五十嵐，座間，成田：日水誌，**16**，349（1951）.
安藤：日水誌，**19**，1069（1954）.
野中：日水誌，**20**，136（1954）.

4) 化学実験学，第二部　微生物及び酵素実験法

5) B.A. Brice, M.L. Swain, S.F. Herb, P.L. Nicols and R.W. Riemenshneider: J.O.C.S ,279 (1952). Herb, S.E., and Riemenschneider, R.W.: Anal. chem., **25**, 953 (1953).

6) 金田，桜井，石井：日水誌，**20**，50（1954）.

深海産鮫類肝油の利用に関する研究—VII.
ヨロイザメ科 (*Dalatiidae*) 肝油の炭化水素含量について

東 秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
(東海区水産研究所)

Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks—VII. Hydrocarbon Content in the Liver Oil of the Order of "yoroizame", *Dalatiidae*

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

The present paper deals with chemical analysis of the liver oil of sharks belonging to *Dalatiidae* which are "yoroizame", *Dalatias licha*, "ondenzame", *Somniosus pacificus* and "kaeruzame", *Heteroscymnus longus*.

Shown in Tables 1, 3 and 5 are date of fishing, fishing area and major morphometric characters of these sharks.

In *Dalatias* used for the study, the weight of the liver averaged about 20 % of the body weight, and the oil content of the liver was similar to those of the sharks reported previously[1),2),3)]. However, the liver weight and the oil content in the livers of two other species were less than those of *Dalatias* (Table 2, 4 and 6).

The hydrocarbon content in the liver of *Dalatias* was found the highest of these species and followed by these of *Heteroscymnus* and *Somniosus* in this order.

The relation of the unsaponifiable matter content and the hydrocarbon content of the liver oil in *Dalatias* is proportional as in the the case with the sharks studied on the previous occasions. But the hydrocarbon of the liver oil from *Heteroscymnus* is remarkably lower in amount than the unsaponifiable matter content in the same sample. The case is the same with *Somniosus* (Fig. 1).

The liver oil of *Heteroscymnus* and *Somniosus* have a great amount of vitamin A, detail of which will be reported in the near future.

I 緒 言

著者等は前報[1)2)3)]迄にユメザメ *Centroscymnus owstoni*, ヘラツノザメ類 *Deania* spp. 及びアイザメ類 *Centrophorus* spp. の肝油或は卵油の炭化水素含有量及びその消長についての研究結果を発表した。

本報に於てはヨロイザメ科 (*Dalatiidae*) の三種の鮫類の肝油中の炭化水素含量について報告する。ヨロイザメ科には三属があり各属1種の鮫が知られている。即ちヨロイザメ *Dalatias licha* (BONNATERRE), オンデンザメ *Somniosus pacificus* BIGELOW et SCHROEDER 及びカエルザメ *Heteroscymnus iongus* TA-

1954 年 7 月 24 日受理 (印刷費負担) 東海区水産研究所業績 B 第 155 号

NAKA である。

これ等の鮫類は既報の鮫と混獲されるもので漁獲高は少い。これ等の中ヨロイザメ及びオンデンザメの肝油中の squalene に就ては辻本[4]の報告があり，カエルザメのビタミン A 含量については著者等[5]が報告している。

以上の3種の中ヨロイザメ肝油は炭化水素含量が最も多く，カエルザメこれにつぎオンデンザメは最も少い。

カエルザメ及びオンデンザメの肝油はビタミン A を濃厚に含む点で他の深海産鮫類と大いに異る。この点に就ては別に報告する。

II 実験の部

(i) ヨロイザメ肝油について

ヨロイザメは大平洋岸の深海で漁獲されるが外国にも広く分布している。体色は暗褐色で頭部が短少である。尚ヨロイザメのことを大磯ではコツブリ，焼津ではアマザメ，台湾では黒蕃沙という。ヨロイザメ及びその肝臓を写真 1，2 に示す。試料は3尾でこれ等の魚体記録を Table 1 に示す。3尾共雌で雄の試料の無いのは遺憾であつた。

肝油は淡黄色の透明な液体で他の深海産鮫の肝油と同様である。試料の肝油を各別にその性状，不鹼化物と炭化水素の性状及び炭化水素の割合を夫々測定或は算出した結果をとりまとめ Table 2 に示す。

Table 1. 試料としたヨロイザメの漁獲日，漁場及び魚体記録

List of the samples of *Dalatias* with morphometric data.

試料番号 Sample number	性別 Sex	漁獲年月日 Date of fishing	漁場 Fishing area	体長 (cm) Body length	体重 (g) Body weight (A)	肝臓重量 (g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合 (%) B/A×100	肝臓の含油量 % Oil content in liver
125	♀	9/10/1951	大磯(神奈川県) Oiso(Kanagawa pref.)	131	30200	5250	17.4	80.0
196	♀	11/6/1953	焼津(静岡県) Yaizu(Shizuoka pref.)	131	24300	5820	23.9	78.4
2010	♀	10/9/1941	東港(台湾) Tongkong (Formosa)	117	20000	4200	21.0	72.0

Table 2. ヨロイザメ肝油とその不鹼化物の性状

Charactersistics of liver oil of *Dalatias* and its unsaponifiable matter

試料番号 Sample number	肝油 Liver oil			不鹼化物 Unsaponifiable matter				肝油中の炭化水素含量(%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
	比重 d_4^{15} Specific gravity	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹼化物含量(%) Unsap. matter content	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	炭化水素含量(%) Hydrocarbon content		
125	0.8857	1.4700	196.0	54.50	1.4750	255.5	59.72	32.55	1.4850
196	——	1.4755	216.7	64.24	1.4813	282.3	72.86	46.81	1.4889
2010	0.8717	1.4770	265.4	83.90	1.4805	323.2	86.90	72.90	1.[illegible]

表に見るようにヨロイザメに於ても炭化水素の含量は個体により相当開きが見られる。

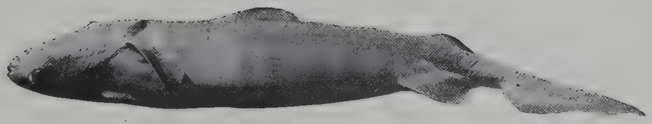


写真 1. ヨロイザメ *Dalatias licha* (BONNATERRE) 東港（台湾）産
Yoroizame at Tongkong, Formosa

写真 2. ヨロイザメの肝臓
Liver of "yoroizame"

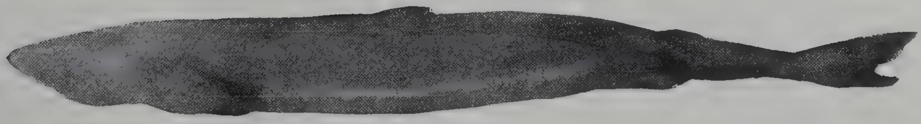


写真 3. オンデンザメ *Somniosus pacificus* BIGELOW et SCHROEDER 大磯産
Ondenzame at Oiso, Kanagawa pref.

(ii) オンデンザメ肝油について

オンデンザメもヨロイザメと同じく相当広い範囲に分布する。体色は茶褐色である。オンデンザメの外観を写真3に示す。試料は3尾でこれ等の魚体記録を Table 3 に示す。

Table 3. 試料としたオンデンザメの漁獲日，漁場及び魚体記録

List of the samples of *Somniosus* with morphometric data

試料番号 Sample number	性別 Sex	漁獲年月日 Date of fishing	漁 場 Fishing area	体 長 (cm) Body length	体重 (g) Body weight (A)	肝臓重量 (g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合 (%) B/A×100	肝臓の含油量 %) Oil content in liver
3	♀	10/23/1950	大磯(神奈川県) Oiso(Kanagawa pref.)	118	15000	2400	16.0	50.3
11	♀	12/4/1950	〃	85	5400	900	16.7	60.0
148	♂	7/20/1952	館山(千葉県) Tateyama (Chiba pref.)	87	5050	980	19.4	60.2

表に見るように体重に対する肝臓重量の割合は深海鮫としては小さく肝臓中の含油量も亦少い。

試料の肝油を各別にその性状，不鹸化物と炭化水素の性状及び炭化水素の割合を測定，算出した，結果をとりまとめ Table 4 に示す。

Table 4. オンデンザメ肝油とその不鹸化物の性状

Characteristics of liver oil of *Somniosus* and its unsaponifiable matter

試料番号 Sample number	肝 油 Liver oil				不 鹸 化 物 Unsaponifiable matter		肝油中の炭化水素含量 (%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
	比重 d_4^{15} Specific gravity	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹸化物含量(%) Unsap. matter content	屈折率 n_D^{40} Refractive index	炭化水素含量 (%) Hydrocarbon content		
3	0.8975	1.4670	172.8	29.4	1.4732	54.4	16.0	1.4820
11	0.9000	1.4608	88.6	29.8	1.4630	7.7	2.3	——
148	——	1.4658	84.6	30.1	1.4690	11.0	3.2	——

表に見るように炭化水素の含量は非常に少い。

(iii) カエルザメ肝油について

カエルザメは相模湾，駿河湾で漁獲される。オンデンザメに似て体色は褐色である。肝臓は他の深海産鮫よりはるかに細くて小さい。試料は4尾でこれ等の魚体記録を Table 5 に示す。

Table 5. 試料としたカエルザメの漁獲日，漁場及び魚体記録

List of the samples of *Heteroscymnus* with morphometric data

試料番号 Sample number	性別 Sex	漁獲年月日 Date of fishing	漁　場 Fishing area	体　長 (cm) Body length	体重 (g) Body weight (A)	肝臓重量 (g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合 (%) B/A×100	肝臓の含油量(%) Oil content in liver
2011	♀	12/9/1949	由比(静岡県) Yui (Shizuoka pref.)	106	15000	1600	10.7	80.0
177	♂	10/2/1953	大磯(神奈川県) Oiso (Kanagawa pref.)	83	4900	800	16.3	63.8
209	♂	12/22/1953	焼津(静岡県) Yaizu (Shizuoka pref.)	87	5570	820	14.7	72.7
210	♀	2/19/1954	〃	126	19500	3500	17.9	70.3

表に見るように体重に対する肝臓重量の割合はオンデンザメと同じく小である。

試料の肝油を各別にその性状，不鹼化物と炭化水素の性状及び炭化水素の割合を夫々測定，算出した結果をとりまとめ Table 6 に示す。

Table 6. カエルザメ肝油とその不鹼化物の性状

Characteristics of liver oil of *Heteroscymnus* and its unsaponifiable matter

試料番号 Sample number	肝　油 Liver oil			不　鹼　化　物 Unsaponifiable matter				肝油中の炭化水素含量(%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
	比重 d_4^{15} Specific gravity	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹼化物含量(%) Unsap. matter content	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	炭化水素含量(%) Hydrocarbon content		
2011	0.8915	1.4680	162.3	56.80	1.4740	——	43.30	24.60	1.4850
177	——	1.4673	106.6	37.96	1.4719	127.1	18.80	7.41	——
209	——	1.4723	174.4	52.62	1.4798	235.0	59.22	31.16	1.4877
210	——	1.4575	123.0	26.30	1.4739	189.5	43.80	11.52	1.4881

表に見るように炭化水素含量はオンデンザメよりは多いようである。

(iv) ヨロイザメ科の各鮫肝油の不鹼化物含量と炭化水素含量との関係について

Table 2, 4 及び 6 よりヨロイザメ，オンデンザメ及びカエルザメについて夫々の肝油中の不鹼化物含量と炭化水素含量との関係を図示すれば Fig. 1 のようになる。第4報及び第5報で既に述べたようにユメザメ及びヘラツノザメでは夫々の肝油中の不鹼化物含量と炭化水素含量との関係は大体比例関係をなしている。（図中の線はユメザメ肝油中の不鹼化物含量と炭化水素含量の関係を示す回帰直線である。）図に見るようにヨロイザメ肝油はユメザメ肝油と同じく炭化水素含量と不鹼化物含量と比例関係を示している。カエルザメ肝油は図及び表に見るように不鹼化物含量の割合に炭化水素含量が少くユメザメ肝油等に見られるような比例関係を示さず一定の関係を掴み難い。オンデンザメ肝油もこれに似ている。

深海産鮫肝油は一般にビタミン A の少いのに拘わらずカエルザメ及びオンデンザメの肝油中にビタミン A の多いことと不鹼化物含量に比し炭化水素含量の少いこと等は深海産鮫類に於てはビタミン A の代謝と炭化水素の消長と何等かの関係があることを思わしめる。

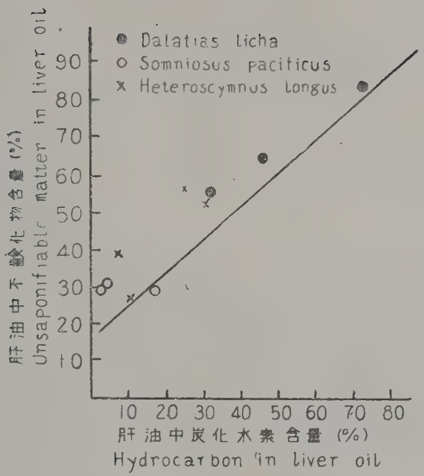


Fig. 1. ヨロイザメ科の鮫肝油の不鹸化物含量と炭化水素含量との関係
Relation between unsaponifiable matter and hydrocarbon content in liver oil of sharks of *Dalatiidae*

Ⅲ 摘　　要

ヨロイザメ科に属するヨロイサメ，オンデンサメ及びカエルザメの魚体調査を行い各肝油についてその炭化水素含量を測定し次のことを知つた。

1. ヨロイザメ科のサメの体重に対する割合は，ヨロイザメ最も多く約 20 %を占めるがオンデンザメ，カエルザメは比較的少い。

2. 肝臓の含油量はヨロイザメが前報迄の鮫と略ゝ等しいが他は稍ゝ少い。

3. 肝油中の炭化水素含量はヨロイザメは比較的多く，カエルザメこれに次ぎオンデンザメは最も少い

4. 肝油中の不鹸化物含量と炭化水素含量との関係はヨロイザメでは前報迄のユメザメ，ヘラツノザメと同様に比例関係をなしカエルザメは不鹸化物に較べて炭化水素の量が少くユメザメ等のような比例関係をなさずオンデンザメもこれに似ている。

文　　献

1) 東，金子，杉井：本誌，19，836～850 (1953).
2)　　同　上　　：同　　上，851～861 (1953).
3)　　同　上　　：同　　上，862～869 (1953).
4) 辻本："肝油の研究"，1 版，丸善，東京 (1936)，pp. 265～268，300～301.
5) 東，平尾，山田，菊地：ビタミン，7，158～162 (1954).

深海産鮫類肝油の利用に関する研究—VIII.
キンデンザメ（仮稱）*Centrophorus sp.* 肝油の炭化水素含量について

東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
（東海区水産研究所）

Studies on Utilization of the Liver Oil of the Deep Sea Sharks—VIII. Hydrocarbon Content in the Liver Oil of "Kindenzame", *Centrophorus sp.*

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

The present paper deals with chemical analysis of the liver oil obtained from a species of sharks belonging to *Centrophorus* which is tentatively assigned as "kindenzame".

Shown in Table 1 are major morphometric characters of this shark. Of many species so far examined, this shark present on the average of the liver weighing about 23% of the body which is the heaviest next to that of the "aizame" *Centrophorus* sp.; and the oil content of the liver was similar to those of sharks reported previously.

Table 2 indicates characteristics of liver oil and its unsaponifiable matter. The hydrocarbon content in the liver oil of this shark was found higher than in other sharks except "aizame", *Centrophorus sp.*

I. 緒　　言

キンデンザメ（仮称）* はツノザメ科, *Squalidae* アイザメ属, *Centrophorus* に属すが先に著者等が本研究の第VI報で報告したアイザメ類, *Centrophorus* spp. とは明かに異るものである。

当研究所における分類学者阿部博士によれば恐らく新種と思われる由で目下これの検索中である。同氏はこの鮫を漁獲した漁船金伝丸に因み仮にこれをキンデンザメと称することにされた。

キンデンザメ肝油についての研究は従来全く為されていないので本報においてその肝油中の炭化水素含量について報告する。

II. 実 験 の 部

i）試　料

本研究に用いたキンンデンザメは4尾で 1953年10月大磯で入手したもの3尾及び 1951年4月に伊豆半島東沿岸で蒼鷹丸にて採捕したもの1尾（試料番号 118）である。キンデンザメは形状はアイザメと似ているが鱗が全く異っている。魚体及び肝臓の写真を夫々写真 1,2 に示す。

ユメザメ又はヘラツノザメ等と混獲されるが漁獲高は少い。

ii）実験結果及び考察

1954年10月22日受理　東海区水産研究所業績B第170号（印刷費負担）

* 大磯の方言ではヨシボウという。

a） 魚体について

供試キンデンザメについて，夫々体長，体重，肝臓重量，肝臓の含油量及び抱卵せるものにおいては卵の重量を測定した。この結果を Table 1 に示す。

Table 1. 試料の漁獲日，漁場及び魚体記録
List of the samples with morphometric data.

試料番号 Sample number	性別 Sex	体長(dm) Body length	体重(g) Body weight (A)	肝臓重量(g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合(%) 100 B/A	肝臓中含油量(%) Oil content in liver	卵重量(g) Egg weight (C)	体重に対する卵重量の割合(%) 100 C/A	卵の数 Number of eggs	卵1個の重量(g) Weight of an egg	卵の直径(cm) Diameter of egg
118	♀	106	9500	2180	22.9	79.7	—	—	—	—	—
156	♀	100	12500	2800	22.4	75.9	—	—	—	—	—
157	♀	115	16600	3700	22.3	74.5	900	5.4	11	82	6
158	♂	92	6200	1580	25.5	81.2	—	—	—	—	—

肝臓重量の体重に対する割合は平均 22.9％で，アイザメ類に次いで肝臓が大きい。

b） 肝油について

試料の肝臓より各別に炒取法で肝油を採取した。炒取残渣をエーテルで抽出しその抽出油と炒取油との和を肝臓重量で除して 100 倍した値を含油量とした。各試料の含油量は Table 1 に示した。この肝臓中含油量は他の深海産鮫類と殆んど同じである。

キンデンザメの肝油は淡黄色の透明な液体で他の深海産鮫類の肝油と同様腥臭は殆んどない。

試料の肝油につき各別にその性状と各肝油より得られた不鹸化物と炭化水素の性状及び炭化水素の割合を夫々測定した結果をとりまとめて Table 2 に示す。

Table 2. 肝油及びその不鹸化物の性状
Characteristics of liver oil and its unsaponifiable matter.

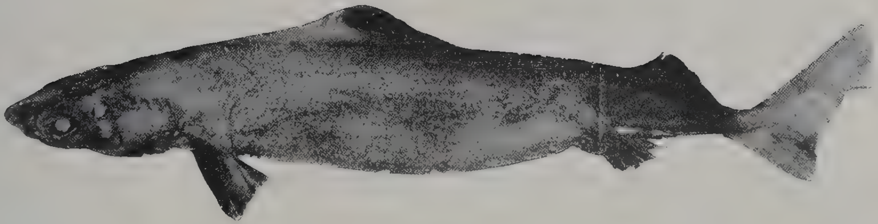
試料番号 Sample number	肝油 Liver oil: 屈折率 n_D^{40} Refractive index	肝油 Liver oil: 沃素価 Iodine number	肝油 Liver oil: 不鹸化物含量(%) Unsaponifiable matter content	不鹸化物 Unsaponifiable matter: 屈折率 n_D^{40} Refractive index	不鹸化物 Unsaponifiable matter: 沃素価 Iodine number	不鹸化物 Unsaponifiable matter: 炭化水素含量(%) Hydrocarbon content	肝油中炭化水素(%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
118	1.4789	303.8	66.8	1.4830	351.8	90.6	60.5	1.4850
156	1.4807	271.2	65.81	1.4870	345.0	89.78	59.09	1.4889
157	1.4805	253.7	66.29	1.4862	325.1	83.94	55.64	1.4889
158	1.4832	301.0	77.40	1.4872	340.5	93.38	72.28	1.4887

表に見るようにキンデンザメ肝油においては炭化水素の量は同族であるアイザメ類には及ばないが他の多くの深海産鮫類よりは多い。各個体の間の炭化水素量の開きも他の鮫類程著しくはない。従つてこの鮫の本格的漁場が明かにされればアイザメと同様スクアレン資源として注目すべきものであろう。脂肪酸の組成等については後に報告する。

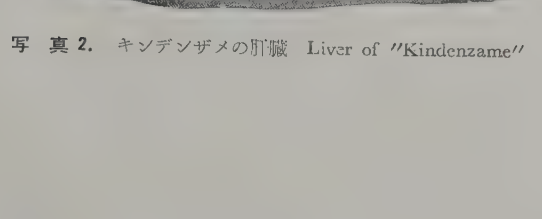
Ⅲ 摘　　要

アイザメ属に属する新種キンデンザメ（仮称）についてその魚体調査を行い試料の各肝油についてその性状並びに炭化水素含量を測定し，次の結果を得た。

1. 肝臓の体重に対する割合は 22.9％で深海産鮫類の中，アイザメ類に次いで肝臓が大きい。
2. 肝臓の含油量は他の深海産鮫類と殆んど同じである。
3. 肝油中の炭化水素含量はアイザメ類に次いで多い。



写　真 1.　キンデンザメ　*Centrophorus* sp.　大磯産
"Kindenzame" caught off Oiso, Kanagawa pref.



写　真 2.　キンデンザメの肝臓　Liver of "Kindenzame"

深海産鮫類肝油の利用に関する研究—IX.
ユメザメ (*Centroscymnus owstoni* GARMAN)の雄の肝油中の炭化水素含量と精巣の重量との関係について

東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
(東海区水産研究所)

Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks——IX.
The Relation between Hydrocarbon Content in Liver Oil of Male of "Yumezame", *Centroscymnus owstoni* GARMAN and their Milt Weight

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

In the fourth paper of this series it was reported that the males of *Centroscymnus* show individual varience in the hydrocarbon content of their liver oil, which was supposed to be probably related with the weight of their milts.

In an attempt at ascertaining that view we have investigated about 30 samples of the same species which were obtained recently and agreed with the previous samples in regard to the average weight of the liver, oil content in the liver and the hydrocarbon content in its oil.

As a result the milts have been found to weigh only 1.44 % to the body weight, oiil content of the milts 0.38 % and hydrocarbon content of the oil 6.16%.

No clear tendency was found in relation between weight of the milt and hydrocarbon content in the liver oil.

I. 緒　　言

著者等は本研究の第Ⅳ報[1)]においてユメザメ肝油中の炭化水素の消長について研究し，雄魚は雌魚に較べて肝油中の炭化水素を多く含むことを認めた。また雌魚においては肝油中の炭化水素含量は個体により大差が見られないが，雄魚では個体差が大きいことを見出した。雄魚の肝油中の炭化水素含量の個体差が大きい原因については精巣の大小と関係があるかも知れないと予想した。その後ユメザメの雄 29 個体を入手し得たので，これらの雄魚について夫々魚体調査を行い，肝油の性状及び炭化水素含量を測定して雄魚の精巣の大小と肝油中の炭化水素含量との関係を検討したが余り明らかな結果は得られなかつた。

Ⅱ. 実 験 の 部

1) 試料

本研究に用いたユメザメ *Centroscymnus owstoni* GARMAN は当研究所漁具漁法部の深海延縄試験で相模湾で漁獲されたもの及び神奈川県大磯の飯田金太郎氏より購入したものである。ユメザメについては既に第Ⅳ報に述べたのでこゝでは省略する。昨年9月下旬より 10 月上旬にかけて肝油を得るために前記飯田氏に依頼して1週間に亘り漁獲せしめた処仲々ユメザメの雄は得られなかつたが最終日に至つて一度にとれた

1954 年 10 月 22 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 174 号 (印刷費負担)

ものである。

ii） **実験結果**

a） 魚体について

供試ユメザメについて夫々体長，体重，肝臓重量，及び精巣の重量を測定した。漁場は全部相模湾である　この結果を Table 1 に示す。

Table 1.　試料の魚体記録

List of the samples with morphometric data

試料番号 Sample number	漁獲年月日 Date of fishing	体長 Body length	体重 Body weight(A)	肝臓重量 Liver weight(B)	100 B/A	精巣の重さ Milts weight(C)	100 C/A
		(cm)	(g)	(g)		(g)	
178	10/4/1953	68	2500	580	23.2	36	1.44
179	〃	68	2600	600	23.1	58	2.12
180	〃	66	2400	560	23.3	36	1.50
181	〃	66	2400	580	24.1	44	1.83
182	〃	65	2200	460	20.9	34	1.54
184	〃	66	2600	600	23.1	40	1.54
185	〃	65	2400	580	24.1	30	1.25
186	〃	66	2400	580	24.1	27	1.13
187	〃	63	2200	560	25.4	25	1.14
188	〃	63	2300	520	22.6	36	1.57
189	〃	65	2200	540	24.5	42	1.91
190	〃	67	2400	500	20.8	40	1.67
191	〃	64	2100	580	27.6	23	1.09
192	〃	62	2500	640	25.6	31	1.24
193	〃	67	2700	640	23.7	35	1.30
194	〃	63	2000	500	25.0	33	1.67
195	〃	63	2400	600	25.0	34	1.42
197	12/10/1953	62	2400	500	20.8	28	1.17
198	〃	61	2300	590	25.6	34	1.48
199	〃	60	2300	490	21.3	30	1.30
200	〃	53	2100	510	24.3	24	1.14
201	〃	59	1900	500	26.3	23	1.21
202	〃	64	2600	700	26.9	34	1.31
203	〃	62	2600	635	24.4	33	1.27
204	〃	60	2300	600	26.1	33	1.43
205	〃	61	2300	520	22.6	32	1.39
206	〃	63	2600	550	21.2	42	1.61
207	〃	65	2600	630	24.2	30	1.15
208	〃	71	2800	610	21.8	47	1.68

肝臓は乳白色の細長い２葉より成りその重量は平均して体重の 23·8 % でこの値は第Ⅳ報で述べた値と一致する。精巣は細長い２本の棒状をなし最大のもので 58 g，体重の 2.12%で平均して 31g，1.44%であった。Table 1 から得られた体重に対する精巣の重量の関係を Fig.1 に示す。

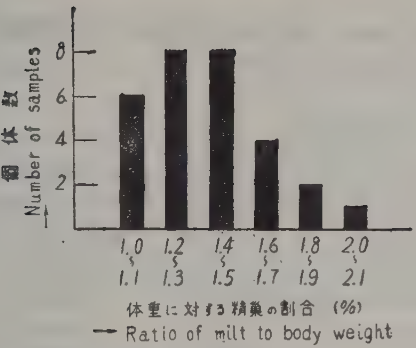


Fig. 1. 精巣重量の体重に対する百分比別の個体数

Number of the samples sorted by ratio of the liver weight.

Table 2. 肝臓中含油量

Oil content in the liver

試料番号 Sample number	含油量 Oil content (%)	試料番号 Sample number	含油量 Oil contetn (%)	試料番号 Sample number	含油量 Oil content (%)
178	81.4	189	81.4	200	90.3
179	83.2	190	80.7	201	85.6
180	84.1	191	79.0	202	77.5
181	80.9	192	82.4	203	83.9
182	82.5	193	82.2	204	82.4
184	82.9	194	80.9	205	88.5
185	83.7	195	81.4	206	82.2
186	80.6	197	76.7	207	85.0
187	82.9	198	88.2	208	80.0
188	80.4	199	80.9		

b) 肝臓の含油量について

供試ユメザメの肝臓をとり，各別に炒取法で肝油を採取した。炒取残渣をエーテルで抽出しその抽出油と炒取油との和を肝臓重量で除して 100 倍した値を含油量とした。この結果を Table 2 に示す。

含油量は大体第Ⅳ報に報告したものと似ている。

c) 肝油の性状について

ユメザメ(雄)の肝油は第Ⅳ報のものと同様透明な液体で普通の魚油のような腥臭が殆んど無い。試料とした鮫の肝油を各別に屈折率，沃素価* 及び不鹸化物含量を測定した。その結果を Table 3 に示す。

Table 3. 肝 油 の 性 状

Characteristics of liver oil by sample.

試料番号 Sample number	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹸化物含量 (%) Unsaponifiable matter content	試料番号 Sample number	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹸化物含量 (%) Unsaponifiable matter content
178	1.4785	243.9	72.61	194	1.4783	243.8	66.26
179	1.4811	267.2	77.00	195	1.4770	231.3	65.92
180	1.4795	250.4	71.65	197	1.4768	224.8	65.62
181	1.4814	277.0	80.22	198	1.4779	230.0	65.40
182	1.4810	269.7	74.03	199	1.4787	246.1	67.12
184	1.4780	240.0	65.10	200	1.4770	235.3	67.21
185	1.4793	259.9	73.76	201	1.4792	259.2	69.69
186	1.4753	206.1	58.79	202	1.4800	255.1	72.79
187	1.4778	240.1	64.37	203	1.4800	264.6	73.78
188	1.4775	245.9	63.74	204	1.4822	275.2	78.23
189	1.4780	244.6	69.06	205	1.4773	220.8	61.68
190	1.4774	232.0	66.61	206	1.4825	276.7	79.04
191	1.4760	224.1	58.59	207	1.4805	265.6	77.27
192	1.4779	235.9	64.69	208	1.4805	274.6	76.13
193	1.4780	240.9	71.37				

* 沃素価はすべて Wijs 法により測定した。

なおこれらの肝油から夫々不鹸化物をとりその屈折率，沃素価，不鹸化物中及び原油中の炭化水素含量及び得られた炭化水素の屈折率を測定或は算出した。その結果を Table 4 に示す。

Table 4. 肝油の不鹸化物の性状

Charav teristics of unsaponifiable matter in the liver oil

試料番号 Sample number	不鹸化物の屈折率 n_D^{40} Refractive index of unsaponifiable matter	炭化水素 Hydrocarbon		
		不鹸化物中含量 In unsap. matter(%)	肝油中含量 In liver oil(%)	屈折率 n_D^{40} Refractive index
178	1.4840	81.25	59.00	1.4885
179	1.4855	88.14	67.87	1.4884
180	1.4855	83.08	59.53	1.4885
181	1.4856	87.23	69.98	1.4888
182	1.4856	86.66	64.16	1.4883
184	1.4840	80.56	52.45	1.4885
185	1.4840	84.77	62.53	1.4882
186	1.4830	77.88	45.79	1.4882
187	1.4840	83.12	53.51	1.4884
188	1.4848	80.59	51.37	1.4889
189	1.4842	80.79	55.80	1.4887
190	1.4840	83.20	55.42	1.4889
191	1.4837	80.79	47.34	1.4889
192	1.4830	82.34	53.27	1.4888
193	1.4834	78.88	56.30	1.4889
194	1.4848	83.44	55.30	1.4883
195	1.4840	82.25	54.22	1.4890
197	1.4830	74.94	49.18	1.4889
198	1.4843	82.87	54.20	1.4889
199	1.4849	83.76	56.22	1.4889
200	1.4844	83.55	56.16	1.4880
201	1.4837	86.16	60.05	1.4889
202	1.4851	83.91	61.08	1.4887
203	1.4853	87.32	64.43	1.4889
204	1.4862	91.24	71.38	1.4889
205	1.4848	83.09	51.25	1.4890
206	1.4860	87.17	68.90	1.4889
207	1.4853	89.40	69,08	1.4888
208	1.4860	86.95	66.20	1.4890

表に見るように原油中の炭化水素含量は第Ⅳ報と同様に比較的多い。又炭化水素はその屈折率より見て，殆んどスクアレンと思われる。

d） 精巣油中の炭化水素含量について

試料の精巣より数個をとり出し乳鉢にて混合磨砕した中より 31g をとり脱水芒硝を加えてエーテルにて抽出した処 0.1137 g の油を得た。この油より 32.8 % の不鹸化物を得た。この不鹸化物の炭化水素含量は 18.8%であり，精巣油は 6.16% の炭化水素を含む。

しかし精巣の重量は平均して体重の僅かに 1.44 %であり，また精巣の含油量も 0.38% に過ぎないから精巣中の炭化水素量は雌魚における卵中の炭化水素の如く，ユメザメの全体の炭化水素量に影響を与える程の量ではない。

e） 肝油中の炭化水素含量と精巣の大小について

すでに第Ⅳ報以下で述べたように深海産鮫類に於ては雄は雌に比しその肝油中の炭化水素含量が多い傾向がある。

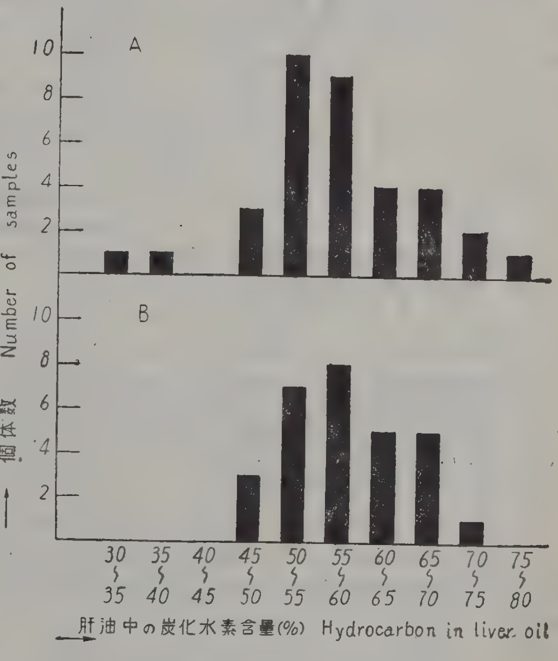
Table 4 の結果から，肝油中の炭化水素量と個体数との関係を Fig. 2 に示す。なお図中に対照として，第Ⅳ報に掲載した雄の肝油中の炭化水素量と個体数との関係を再掲した。

図に見るように本報におけるものも第Ⅳ報のものも殆んど同じ傾向である。

体重と体重 1 kg 当りの肝臓中の炭化水素量との関係も前図同様に第Ⅳ報に掲載したものと併せ Fig. 3に示す。

図に見るように両報の試料とも同様の傾向である。

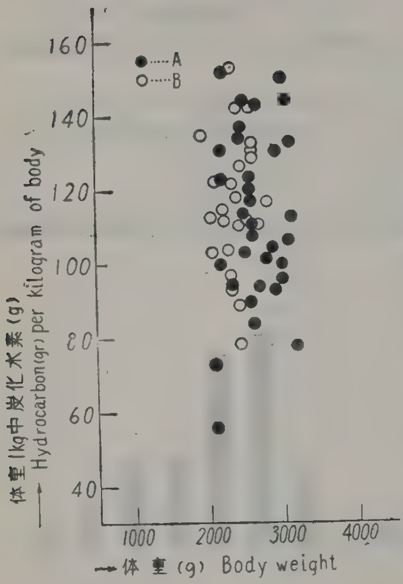
即ち供試雄魚は体重はいずれも近似して居り，しかも肝油中の炭化水素含量は個体によつて甚だしい差異が見られる。そこで我々はこの個体による肝油中の炭化水素の差異が果して精巣の大小と関係があるか否かを検討することにした。即ち各供試雄鮫の精巣の重量を横軸に肝油中の炭化水素含量を縦軸にとりその関係を図示すると Fig. 4 のようになる。



A……第Ⅳ報の試料　Samples in 4th report
B……本報の試料　Samples in this report

Fig. 2. 肝油中の炭化水素含量と個体数
Number of the samples sorted by the hydrocarbon contents of the liver oil

図の結果精巣が大きくなると肝油中の炭化水素量が増加する傾向に見えるが，精巣が略ゝ同大の場合，肝油中の炭化水素含量に大きな開きのあるものが見られるのでこの傾向は明瞭とは云い難い。



A……第Ⅳ報の試料　Samples in 4th report
B……本報の試料　Sample. in this report

Fig. 3. 体重と体重1kg当りの炭化水素量との関係
Relation between body weight and hydrocarbon in the liver per kilogram of body.

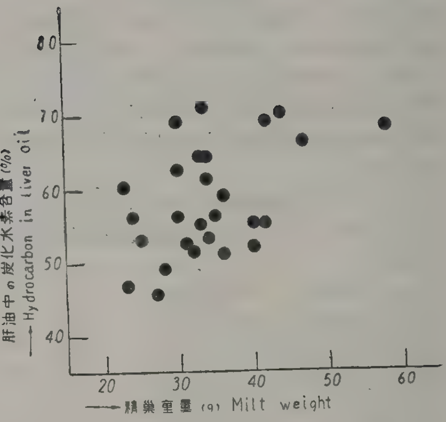


Fig. 4. 肝油中の炭化水素含量と精巣重量との関係
Relation between milt weight and hydrocarbon in liver oil.

Ⅲ. 摘　　要

ユメザメの雄魚の肝油の炭化水素量に著しい個体差のある原因について検討し次のことを知つた。

（1）供試雄魚の平均肝臓重量，肝臓の含油量及び肝油中の炭化水素量はすべて第Ⅳ報の雄魚の場合と一致している。

（2）精巣は含油量僅かに 0.38% で，その油中の炭化水素量は 6.16% であつた。

（3）精巣の重さと肝油中の炭化水素含量との関係は精巣が大きくなると肝油中の炭化水素量も増加するように見えるが精巣が略ゝ同大でも肝油中の炭化水素含量に大きな開きのあるものが見られるのでこの傾向は明瞭とは云い難い。

文　　献

1) 東，金子，杉井：本誌 19，836 (1953).

深海産鮫類肝油の利用に關する研究—X.
諸種の深海産鮫類肝油の炭化水素含量並に深海産鮫類肝油の比重，屈折率及び不鹼化物含量と炭化水素含量との關係について

東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
（東海区水産研究所）

Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks……X. Hydrocarbon Content in Liver Oil of Various Deep Sea Sharks and its Relationships with Specific Gravity, Refractive Index and Unsaponifiable Matter Content.

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

In this paper the content of hydrocarbon contained in the liver oil of various deep sea sharks is reported except those species studied previously.

Although most species examined for the present study have been found with amounts of hydrocarbon, there were exceptions of species or individuals whose liver oils scarcely contained hydrocarbon. They were sample shark No. 8, *Pseudotriakis acrages* and some of *Scymnodon squamulosus*.

Referring to the liver oil obtained from all the samples examined so far the relationships of the hydrocarbon content with either of specific gravity (1), refractive index (2) and the unsaponfiable matter content (3) are expressed by the following equations, respectively;

$x=1773.2-1960\, t_1$ ··················(1) (Fig. 1)

$x=3418.8\, t_2-4991.9$ ················(2) (Fig. 2)

$x=1.266\, t_3-28.7$ ····················(3) (Fig. 3)

where x is the hydrocarbon content in the liver oil (%)

t_1, specific gravity (d_4^{15}) of the liver oil

t_2, refractive index (n_D^{40}) of the liver oil

t_3, unsaponifiable matter in the liver oil (%).

I. 緒　　言

深海産鮫類は種類が頗る多く，分類の明かにされていないものも相当にある。著者等は本研究 Ⅳ～Ⅸ [1-6] において報告した以外の深海産鮫類肝油中の炭化水素含量については各種の試料数が少なかつたので本報に一括して報告することにした。

本報に記載した鮫の中，ビロードザメ *Scymnodon squamulosus* (GÜNTHER) 及びカラスザメ *Etmopterus pusillus* (LOWE) に就ては既に辻本 [7] の研究があるが，カスミザメ *Centroscyllium ritteri* JORDAN et FOWLER，オキナザメ *Centrophorus steindachneri* (PIETSCHMANN)，オシザメ *Pseudotriakis acrages*

1954 年 11 月 5 日受理　東海区水産研究所業績 B 第 177 号（印刷費負担）

Jordan et Snyder 及び名称不明のもの2種については研究がない。なお比較的浅い所で漁獲される鮫の中にも肝油中に炭化水素を含むものがあるがそれは別に報告することにした。

また産業的に鮫肝油中のスクアレンを利用する際，肝油の比重または屈折率から炭化水素（主としてスクアレン）含量が判ると便利である。そこで本報及び本報以前の鮫肝油を含めて一括し，深海産鮫類肝油についてその比重及び屈折率と炭化水素含量との関係を検討した結果を併せ報告する。

II. 実 験 の 部

〔A〕 諸種の深海産鮫類肝油の炭化水素含量

i） ビロードザメ肝油

ビロードザメ *Scymnodon squamulosus* (Günther) はツノザメ科 *Squalidae*, ビロードザメ属 *Scymnodon* に属し従来漁業者はユメザメ，ヨロイザメ，オンデンザメ或はカラスザメと混同している。東京以南の太平洋沿岸の深海に産し，体色は帯紫黒色である。（写真1）肝臓は細長い二葉より成り乳白色である。*

試料としたビロードザメは6尾で，それらの漁獲年月日，漁場，体長，体重，肝臓重量，肝臓の割合及び肝臓中の含油量を Table 1 に示す。

Table 1. ビロードザメの漁獲日，漁場及び魚体記録
List of the samples (*Scymnodon*) with morphometric data.

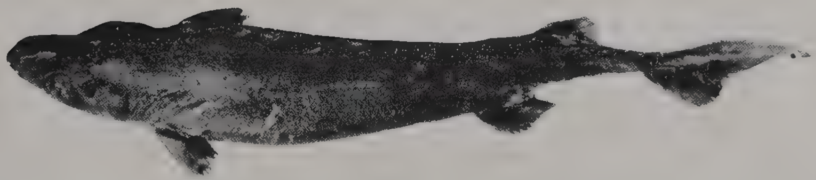
試料番号 Sample number	性別 Sex	漁獲年月日 Date of fishing	漁場 Fishing area	体長 (cm) Body length	体重 (g) Body weight (A)	肝臓重量 (g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合 (%) B/A×100	肝臓の含油量 (%) Oil content in liver
2001		12/26/1949	由比（静岡県） Yui (Shizuoka pref.)	35	495	82	16.6	73.8
2002	♀	〃	〃	75.5	5200	1100	21.2	—
2003	♀	〃	〃	40	700	122	17.4	75.2
2004		〃	〃	39	595	119	20.0	82.0
2005		3/7 /1950		36.5	540	92	17.0	77.1
2006	♀	3/24/1950	豊浜（静岡県） Toyohama (Shizuoka pref)	55	1800	250	13.8	75.0

Table 2. ビロードザメ肝油とその不鹸化物の性状
Liver oil of (*Scymnodon*) and its unsaponifiable matter.

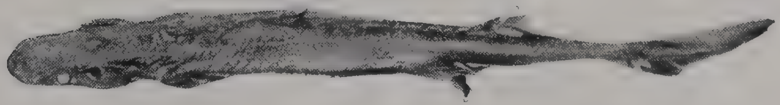
試料番号 Sample number	肝油 Liver oil				不鹸化物 Unsaponifiable matter			肝油中炭化水素 (%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
	比重 d_4^{15} Specific gravity	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹸化物含量(%) Unsap. matter content	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	炭化水素含量(%) Hydrocarbon content		
2001	0.8906	1.4728	220.1	51.0	1.4829	238.0	76.48	39.3	1.4890
2002	0.9336	1.4650	137.2	34.0	1.4677	97.7	55.88	19.0	1. [illegible]03
2007	0.9102	1.4618	87.4	26.0	1.4550	47.3	4.23	1.1	—
2008	0.9132	1.4613	101.7	23.5	1.4622	75.1	8.94	2.1	—
2009	0.8863	1.4723	230.9	57.2	1.4866	—	80.07	45.8	—

* 以下本報において述べる各種の深海産鮫類では肝臓の形態，色調はいずれもよく似ているので以下の項においては肝臓の説明は省略する。

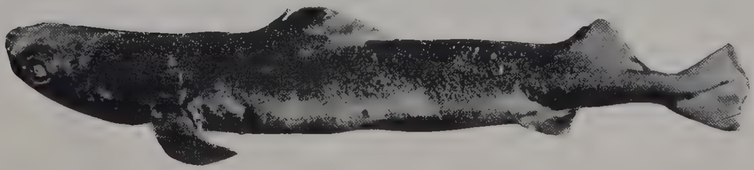
写 真 1. ビロードザメ *Scymnodon squamulosus* (GÜNTHER) 焼津産
Birōdozame caught off Yaizu, Shizuoka pref.



写 真 2. カラスザメ *Etmopterus pusillus* (LOWE) 由比産
Karasuzame Yui, Shizuoka pref.

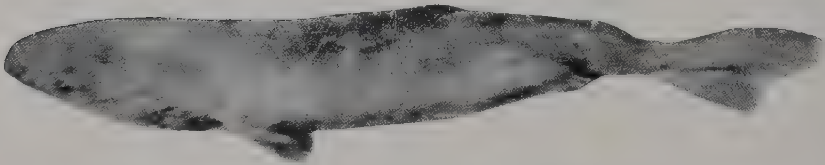


写 真 3. フジクジラ *Etmopterus lucifer* JORDAN et SNYDER

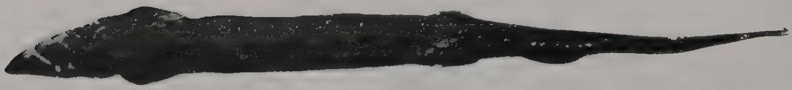


写 真 4. オキナザメ *Centrophorus steindachneri* (PIETSCHMANN) 由比産
Okinazame caught off Yui, Shizuoka pref.

写 真 5. 試料番号 9. のサメ (*Centrophorus* sp.) 大磯産
Sample Shark No. 9 caught off Ōiso, kanagawa pref.



写 真 6. 試料番号 8 のサメ (*Dalatiidae* ?) 大磯産
Sample Shark No. 8 caught off Ōiso, kanagawa pref.



写 真 7. オシザメ *Pseudotirakis acrages* JORDAN et SNYDER 相模湾産
Oshizame caught off Sagami bay.

Table 1. に見るように著者等の取扱つたビロードザメは小型のものが多かつた。体重に対する肝蔵重量の割合は深海産鮫類としては小さい方である。

試料の中5尾の肝油について比重，屈折率，沃素価及び不鹸化物含量を測定し，それらの不鹸化物について屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した。これらの結果から肝油中の炭化水素含量を算出し，炭化水素についてその屈折率を測つた。これらの結果を一括して Table 2. に示す。なお試料番号 2007～9 は 2003～6 のどれかに該当する試料である。

Table 2. に見るように5種の肝油の中試料番号 2007 及び 2008 は肝油中の炭化水素が僅かに 1～2 % である。このように炭化水素含量の少いことは，深海産鮫類肝油として珍しいが，他方試料番号 2009 のように 45.8% も含むものもある。このように同種の深海産鮫類肝油において炭化水素を殆ど含まないものと，多量に含むものとがある理由について更に究明すべく試料採集につとめたが遂に入手できなかつた。

ii）カスミザメ肝油

カスミザメ *Centroscyllium ritteri* JORDAN et FOWLER は，ツノザメ科 *Squalidae* カスミザメ属 *Centroscyllium* に属し，銚子以北の太平洋岸の深海に多い。体色は暗灰褐色で各鰭には白色の縁がある小型の鮫で成魚でも全長 60 cm 程である。

一般に漁業者がクロコザメと云うものは カラスザメ属 *Etmopterus* 及びカスミザメ属 *Centroscyllium* の諸種の混合物である。

試料としたカスミザメ肝油は7例でその中2例は数尾の肝臓を一緒にして採取した肝油である。この7例についてそれらの漁期，漁場，体長，体重，肝臓重量，肝臓の割合及び肝臓の含油量を Table 3. に示す。

Table 3. カスミザメの漁獲日，漁場及び魚体記録

List of the samples (*Centroscyllium*) with morphometric data.

試料番号 Sample number	性別 Sex	漁獲年月日 Date of fishing	漁場 Fishing area	体長 (cm) Body length	体重 (g) Body weight (A)	肝臓重量 (g) Liver weight (B)	体重に対する肝臓の割合 (%) B/A×100	肝臓中含油量 (%) Oil content in liver
15	♀	1/26/1951	小名浜（福島県）Onahama (Fukushima pref.)	30	270	68	25.2	77.1
16	♀	〃	〃	35	590	122	20.7	75.0
17	♀	〃	〃	32	300	74	24.6	75.0
84	♀	4/18/1951	銚子（千葉県）Choshi (Chiba pref.)	40	520	109	21.0	75.0
85	♂	〃	〃	29	260	59	22.7	75.0
混合 Mixture	—	3/4/1950	〃	29～48	180～490	計 Total 600	23.5	76.5
混合 Mixture	—	〃	〃	12～33	20～200	〃 220	27.5	77.5

表に見るように小型ではあるが体重に対する肝臓重量の割合は深海産鮫類として普通である。含油量は他の深海産鮫類の場合より稍少ない。雌鮫はいずれも抱卵して居り，小型であつてもそれらは成魚である。

試料の肝油につき夫々比重，屈折率，沃素価及び不鹸化物含量を測定し，それらの不鹸化物について屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定し，炭化水素についてはその屈折率を測定した。これらの結果を取まとめて Table 4 に示す。

Table 4 に見るように肝油中の炭化水素含量は 16～22 % で大した開きは見られなかつた。深海産鮫類肝油としては炭化水素含量が少ない方である。

Table 4. カスミザメ肝油とその不鹼化物の性状
Liver oil of *Centroscyllium* and its unsaponifiable matter

試料番条 Sample number	肝油 Liver oil				不鹼化物 Unsaponifiable matter			肝油中炭化水素 (%) Hydrocarbon in liver oil	炭化水素の屈折率 n_D^{40} Refractive index of hydrocarbon
	比重 d_4^{15} Specific gravity	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	不鹼化物含量(%) Uunsap. matter content	屈折率 n_D^{40} Refractive index	沃素価 Iodine number	炭化水素含量(%) Hydrocarbon content		
15	0.8923	1.4660	164.5	42.4	1.4722	248.0	51.65	21.9	1.4846
16	0.8939	1.4651	147.5	38.8	1.4706	219.9	43.30	16.8	1.4838
17	0.8910	1.4654	156.1	40.9	1.4720	231.0	44.25	18.1	—
84	0.8868	1.4655	146.1	44.66	1.4700	204.8	49.28	22.01	1.4780
85	0.8938	1.4661	140.1	40.03	1.4720	210.8	48.49	19.41	1.4850
混合 mixture A	0.8879	1.4630	164.1	43.6	1.4711	226.7	51.38	22.4	—
混合 mixture B	0.8827	1.4631	159.2	40.4	1.4759	—	47.03	19.0	—

iii) カラスザメ肝油

カラスザメ *Etmopterus pusillus* (Lowe) はツノザメ科 *Squalidae*, カラスザメ属 *Etmopterus* に属し，フジクジラ *Etmopterus lucifer* Jordan et Snyder 或はカスミザメ属 *Centroscyllium* と混同されている。非常に広い範囲に分布し，体色は灰褐色で腹部は色が濃く頭部に白点がある。小型の鮫で成魚でも体長 50 cm 内外である。(写真2)

試料としたカラスザメは 1949 年 12 月 26 日，静岡県由比に水揚されたもので体長 41 cm，体重 900 g，肝臓中の含油量は 52.5 %，肝臓の割合は 18.9 %であつた。この肝油の性質は次の通りである。

比重 d_4^{15}	0.8882	屈折率 n_D^{40}	1.4675
沃素価	192.3	不鹼化物含量	45.2 %

得られた不鹼物化物の屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した結果は次の通りである。

屈折率 n_D^{40}	1.4725	沃素価	291.4
炭化水素含量	68.36 %		

炭化水素の屈折率及び肝油中の炭化水素含量は次のようである。

屈折率 n_D^{40}	1.4810	肝油中の炭化水素含量	30.9 %

iv) フジクジラ肝油

フジクジラ *Etmopterus lucifer* Jordan et Snyder はツノザメ科 *Squalidae*, カラスザメ属 *Etmopterus* に属し，前項カラスザメ同様の混同を受けている。非常に広い範囲の深海に棲息し，体色は灰黒色でその成魚は大きくても 50 cm 内外で深海産鮫類としては小型の鮫である。(写真3)

試料は当研究室に於ける各種魚類肝油のビタミンA試験の際入手したもので漁期，漁場等は明かでない。体長は 31 cm，体重 100 g，肝臓重量 25 g，肝臓の含油量は不明である。

この肝油の性状は次のようである。

比重 d_4^{15}	0.9081	屈折率 n_D^{40}	1.4602
沃素価	91.2	不鹼化物含量	26.4 %

得られた不鹼化物より炭化水素を定量をした処，3.5 % を含み，これから計算すると原油中 0.9 % の炭化水素を含むことになる。

v) クロコザメ肝油

クロコザメは前述の如く一般にツノザメ科中のカラスザメ属及びカスミザメ属のものをすべて混同誤認し

ている呼名と考えられる。

試料としたクロコザメ肝油は 1951 年福島県小名浜から肝油として入手したもので肝油の性質は次のようである。

比　重 d_4^{15}　0.8944　　屈折率 n_D^{40}　1.4645

沃　素　価　148.6　　不鹼化物含量　35.0 %

得られた不鹼化物の屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した結果は次の通りである。

屈折率 n_D^{40}　1.4763　　沃　素　価　247.4

炭化水素含量　43.43%

炭化水素の屈折率及び肝油中の炭化水素含量は次に示す。

屈　折　率 n_D^{40}　1.4820　　肝油中の炭化水素含量　15.2 %

vi)　オキナザメ肝油

オキナザメ *Centrophorus steindachneri* (PIETSCHMANN) はツノザメ科 *Squalidae*, アイザメ属 *Centrophorus* に属し東京以南の太平洋沿岸の深海に分布する。体色は灰褐色で鱗は他の鮫類より大型である。(写真 4)

試料としたオキナザメは 1949 年 12 月 24 日静岡県由比に水揚されたもので体長 71 cm，肝臓重量 355 g，肝臓中の含油量は 72 % であつた。前取法で採取した肝油の性質は次のようである。

比　重　d_4^{15}　0.8840　　屈　折　率 n_D^{40}　1.4740

沃　素　価　248.1　　不鹼化物含量　52.0 %

得られた不鹼化物の屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した結果は次の通りである。

屈　折　率 n_D^{40}　1.4790　　沃　素　価　303.9

炭化水素含量　92.3 %

炭化水素の屈折率及び肝油量中の炭化水素含量を次に示す。

屈　折　率 n_D^{40}　1.4795　　肝油中の炭化水素含量　48 %

vii)　試料番号 9 の鮫の肝油

この鮫は 1950 年 12 月 4 日，試料番号 8 と共に神奈川県大磯に水揚されたもので阿部宗明博士は今迄見たことのないものだという。恐らく第 VIII 報に報告したキンデンザメ（*Centrophorus* sp.）の幼魚かと考えられるが目下阿部博士が検索中である。この鮫は多分雄と思われるが判然としない。(写真 5)

この鮫の体長は 44 cm，体重は 520 g，肝臓重量は 90 g，肝臓中の含油量は 60.0 % であつた。煎取法で採取した肝油の性質は次の通りである。

比　重　d_4^{15}　0.8771　　屈　折　率 n_D^{40}　1.4775

沃　素　価　265.0　　不鹼化物含量　69.5 %

得られた不鹼化物の屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した結果は次の通りである。

屈折率 n_D^{40}　1.4825　　沃　素　価　325.0

炭化水素含量　80.96 %

炭化水素の屈折率及び肝油中の炭化水素含量を次に示す。

屈　折　率 n_D^{40}　1.4840　　肝油中の炭化水素含量　56.2 %

viii)　試料番号 8 の鮫の肝油

この鮫*は 1950 年 12 月 4 日，試料番号 9 と共に神奈川県大磯に水揚されたもので，阿部宗明博士は今迄に見たことのない鮫だという。(写真 6)

---

*　同年春蒼鷹丸が相模湾で漁獲した体長 150 cm 程の鮫と同一のものであるかも知れない。遺憾ながらその鮫は海中で内臓を殆ど大部分虫に喰われて肝油の試験はできなかつた。

恐らくヨロイザメ科 *Dalatiidae* に属するものの幼魚であろう。この鮫も試料番号 9 の鮫と同じく雄であるらしい。試料とした鮫の体長は 59.5 cm，体重は 1840 g，肝臓重量は 115 g で肝臓を煎取して得た肝油の採油率は僅かに 27.9 % であつた。

肝油の性質は次の通りである。

比重 d_4^{15}	0.9212	屈折率 n_D^{40}	1.4710
沃素価	107.9	不鹼化物含量	30.6 %

得られた不鹼化物の屈折率，沃素価及び炭化水素含量を測定した結果は次のようである。

屈折率 n_D^{40}	1.4680	沃素価	73.4
炭化水素含量	痕跡		

この鮫の肝油は殆ど炭化水素を含まず深海産鮫類としては珍しい。

ix) オシザメ肝油

オシザメ *Pseudotriakis acrages* JORDAN et SNYDER は今迄述べた鮫類と全く種類を異にし，星椎亜目 *Asterospondyli*，オシザメ科 *Pseudotriakidae*，オシザメ属 *Pseudotriakis* に属し，太平洋岸の深海で漁獲される。体色は暗褐色で各鰭の縁は黒い。(写真 7)

試料としたオシザメは 1951 年 1 月 26 日蒼鷹丸が相模湾で漁獲したもので体長 170 cm，体重 29,000 g の雄で肝臓重量 3,500g で煎取して採油した肝油の歩留りは 55.4 % であつた。

この肝油の性質は次の通りである。

比重 d_4^{15}	0.9184	屈折率 n_D^{40}	1.4632
沃素価	102.7	不鹼化物含量	5.25%

得られた不鹼化物の屈折率及び炭化水素含量を測定した結果は次の通りである。

屈折率 n_D^{40} 1.4710 炭化水素含量 0.1 %

即ちオシザメ肝油の炭化水素含量は極微量である。

〔B〕 深海産鮫類肝油の比重，屈折率と炭化水素含量との関係

すでに第Ⅳ報ユメザメの肝油において示したように，炭化水素を含む肝油の比重，屈折率と炭化水素含量との間には相関関係が見出されるが，産業的に深海産鮫類肝油を採集する場合は一種類の鮫肝油のみを採集することは少い。*

実際問題としてはその肝油が深海産鮫類の肝油であるならばその種類の如何を問わず肝油の性状と炭化水素含量との相関関係が見出されることが望ましい。かかる観点から著者等が第Ⅳ～Ⅸ報において取扱つた深海産鮫類の肝油 179 例について，それらの肝油の比重，屈折率，不鹼化物含量及び肝

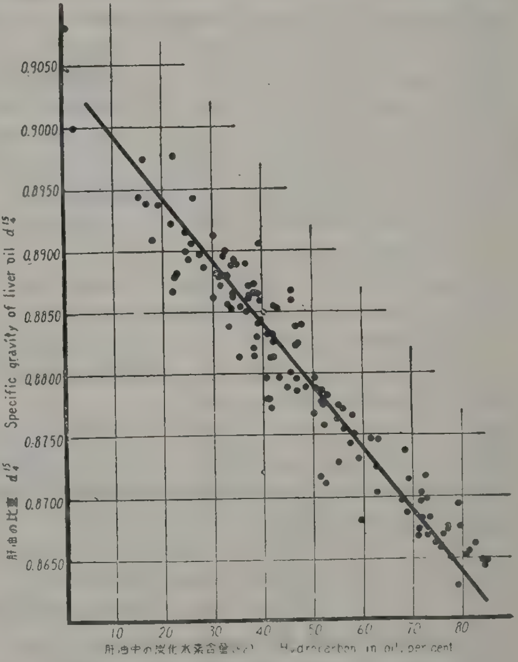


Fig 1. 肝油の比重と炭化水素含量との関係
Relation between specific gravity of liver oil and hydrocarbon content in liver oil.

* 紀州南部，四国の清水沖に漁場を限定すれば殆どアイザメ肝油のみを採集することができる。

油の炭化水素含量を測定した結果から肝油の比重と肝油中の炭化水素との関係を Fig. 1に，肝油の屈折率と肝油中の炭化水素との関係をFig. 2 に，肝油の不鹼化物と肝油中の炭化水素との関係を Fig. 3*に夫々示す。図中の直線は夫々の回帰直線である。

Fig. 1 に於て，炭化水素含量を x，比重 (d_4^{15}) を t_1 とすれば両者の関係は次式で表わされる。

$x=1773.2-1960\,t_1$ ……………(Ⅰ)

Fig. 2 に於て炭化水素含量を x，屈折率 (40°C) を t_2 とすれば両者の関係は次式で表わされる。

$x=3418.8\,t_2-4991.9$ …………(Ⅱ)

Fig. 3 に於て炭化水素含量を x，不鹼化物含量をと t_3 すれば両者の関係は次式で表わされる。

$x=1.266\,t_3-28.7$ …………… (Ⅲ)

これらにより肝油の比重，屈折率又は不鹼化物含量から近似的な炭化水素含量を推定することができる。

Ⅲ 摘　　要

(1) ユメザメ，ヘラツノザメ，アイザメ，ヨロイザメ，オンデンザメ，カエルザメ及びキンデンザメ以外の深海産鮫類の肝油の炭化水素含量を調査した処，深海産鮫類の多くは肝油に相当多量の炭化水素を含むが試料番号 8の鮫（ヨロイザメ属に属す？）ビロードザメの一部及びオシザメの肝油は炭化水素含量が極微量であつた。

(2) 深海産鮫類肝油中の炭化水素含量と肝油の比重，屈折率及び不鹼化物含量とは以下に示す関係を有する。

a) 炭化水素含量を x，比重 (d_4^{15}) を t_1 とすれば両者の関係は次式で表わされる。

$x=1773.2-1960\,t_1$ ……………(Ⅰ)

b) 炭化水素含量を x，屈折率 (n_D^{40}) を t_2 とすれば両者の関係は次式で表われる。

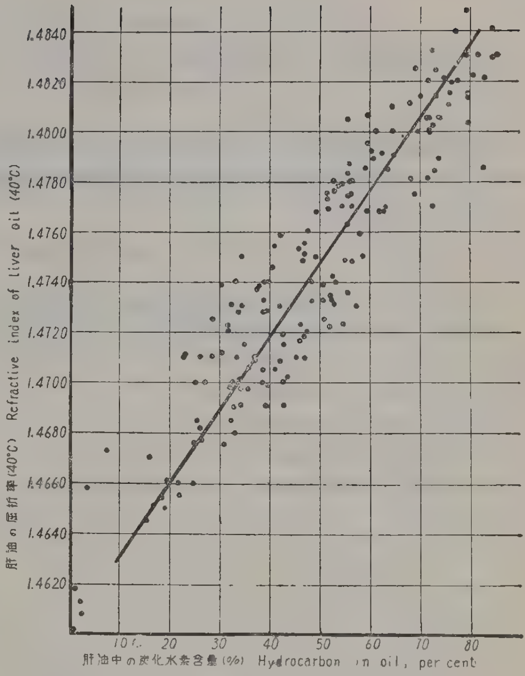


Fig 2. 肝油の屈折率と炭化水素含量との関係
Relation between refractive index of liver oil and hydrocarbon content in liver oil.

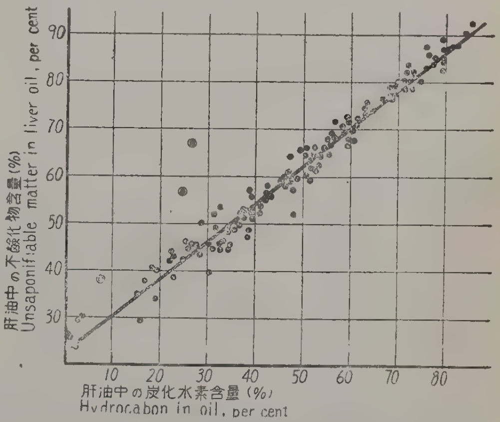


Fig 3. 肝油の不鹼化物含量と炭化水素含量との関係
Relation between unsaponifiable matter content in liver oil and hydrocarbon content in liver oil.

* Fig. 3 中の ◉ は第 Ⅶ[4] 報で述べたカエルザメ肝油である。

$$x=3418.8\,t_2-4991.9$$

c) 炭化水素含量を x，不鹸化物含量を t_3 とすれば両者の関係は次式で表わされる。

$$x=1.266\,t_3-28.7$$

本稿を終るに当り鮫の分類につき御教示を賜わつた阿部宗明博士，御助言を戴いた本研究所源生所長，田中昌一技官及び試料の採集に御援助を賜わつた本研究所漁具漁法部高山部長並びに蒼鷹丸今村船長以下乗員各位に厚く謝意を表する。

文　　　献

1) 東秀雄，金子徳五郎，杉井麒三郎：日水誌 **19**，836～850
2) 同　上：同　上　**19**，851～861
3) 同　上：同　上　**19**，862～867
4) 同　上：同　上　**20**，323～327
5) 同　上：同　上　印刷中
6) 同　上：同　上　同上
7) 辻本満丸："肝油の研究"，1版，丸善，東京 (1936)。

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—I.
加工油の分子蒸溜

東　秀雄・新間彌一郎・衣巻豊輔
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻　第四号　別刷
昭和二十九年八月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 4, Aug. 1954

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—I. 加工油の分子蒸溜

東 秀雄・新間彌一郎・衣巻豊輔
(東海区水産研究所)

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil.—I. Molecular Distillation of Modified Oil

Hideo HIGASHI, Yaichiro SHIMMA and Toyosuke KINUMAKI

The purpose of this work is to establish the foundation for preparating vitamin A concentrate or vitamin A itself from fish liver or visceral oil on an industrial scale.

The present report deals with a study on the molecular distillation of modified oil. Where the word "modified" is defined as any treatment which changes the composition and properties of oil. Three different treatments used for the study are interesterification propo-ed by E. W. ECKEY, transesterification and selective esterification.

The results obtained are as follows.

a) In the case of the distillation of interesterified oil, yield of distilled oil at a low temperature increases, and vitamin A is a littel difficult to be distilled as compared with that of unmodified oil. The rate of concentration of vitamin A is lower than that of unmodied oil (tables 1,4 and figure 1).

b) In the distilllation of completely transesterified oil with methanol, vitamin A remains in the residue after a greater part of methyl esters is distilled. But the rate of concentration is by far lower than that of unmodified oil, because a fair portion of vitamin A is distilled with methyl esters. This phenomenon is due to a fact that in the transesterification, vitamin A ester contained in natural liver oil chages to vitamin A alcohol which is distilled at a lower temperature (tables 1,5,6 and figure 1).

c) Condition of selective esterification under which 80 to 90 per cent of vitamin A remains in ester form, while glycerides are esterified as much as possible, is studied (figure 2).

This condition is obtained by regurating the amount of sodium methoxyde as catalyst, volume of methanol, time of reaction and temperature.

When selectively esterified oil is used, it is possible to distil methyl esters which contain practically no vitamin A. Accordingly, the rate of concentration of vitamin A by this method is always much higher than that by unselective esterification described in paragraph b and sometimes higer than the rate concentraitng from unmodified oil (tables 2,3,7,8,9,10 and figure 1).

1954年7月24日受理(印刷費負担) 東海区水産研究所業績B第153号

緒　　言

近時米国に於けるビタミンA合成は長足に進歩し，その量産化と共に漸次合成品の価格は引下げられ，それに応じて我が国のビタミン油の価格も下落し，ビタミン油殊に高単位物の輸出の将来が案ぜられている。殊に最近はビタミンA合成業者は天然ビタミン油の Fishiness （魚臭）の不快さを非常に宣伝し，米国内のビタミンA需要の大半を合成Aを以てせんとする意図を明にして居り米国に於けるビタミン油の用途も次第に合成品により置替えられんとしている。我が国に於てすらビタミン剤，強化食品に魚油臭ある高単位ビタミン油を嫌い，合成品を輸入してこれに当てる傾向が最近特に顕著である。

ビタミン油は我が国の重要輸出品であり，外貨獲得のためにその輸出増進を図る必要があるばかりでなく．水産業にとつてもビタミン油の原料である魚類内臓の価格は魚価の相当部分を占めている実状であつて合成ビタミンAの出現により，ビタミン油の需要が減少するのを漫然と傍観している訳にはゆかない。
これが対策として，品質に於ても価格に於ても合成Aに匹敵し得る製品をビタミン油より製造することを可能ならしめ，ビタミン油の需要を更に増大せしめることが必要である。

斯かる見地からビタミン油を原料としてビタミンAを経済的に濃縮し，合成ビタミンAと品質に於ても，価格に於ても充分対抗し得る製品を得る方法の研究を徹底的に行うことにした。

ビタミンAの濃縮法として従来多くの研究がある。工業的に実施可能な方法を大別すれば分子蒸溜法，鹼化法，溶剤抽出法等である。合成Aに対抗できる製品を得るためにはこれ等の濃縮法を合理的に組合せ又その処理法に就ても改良すべき点が多々あるのでAの濃縮，精製法について更に検討を加える必要がある。

分子蒸溜法は戦後我が国でも工業化に成功した一種のビタミンA濃縮法であり，本邦に於けるビタミン油の分子蒸溜に就ての報告も多数見られる。[1)2)3)4)5)6)]

これ等の研究はいづれも原料ビタミン油をそのまゝ或は脱酸精製せる油を分子蒸溜せる場合の研究である。

肝油を分子蒸溜することによりビタミンAは濃縮されるが分子蒸溜による濃縮率はビタメンAの経済的な回収率を考慮する場合には通常 10 倍程度であつて低単位肝油から一回の分子蒸溜によつて合成品に匹敵する高単位の濃縮物を採る事は不可能である。

また分子蒸溜によつて得られた濃縮油をそのまゝ更に繰返して蒸溜する場合には濃縮効果は最初の場合より劣るので高単位ビタミンAを経済的に濃縮する方法としては繰返し蒸溜は不適当とされている。

分子蒸溜に先だち何らかの加工処理を施してグリセリドなり不鹼化物なりの構造を変えた後分子蒸溜を行えば濃縮率或は蒸溜様式が普通の精製ビタミン油或は一度分子蒸溜を行つて得た溜出油をそのまゝ再び分子蒸溜せる場合と異ることを予想した。この場合加工法として著者等は油脂の構造，変革法として一般に知られている Eckey 法，エステル化の二つを撰びそれ等の加工処理を行つた油を分子蒸溜してその濃縮効果を検討して見た。

実験並びに考察

装置

本研究の分子蒸溜は総て東芝製 1kg 仕込流下式分子蒸溜器を用いた。この装置の詳細については既に報告した。[1)]

試料

実験に用いた試料は次の3種である。

<u>ビタミン油A</u>

日之出食品株式会社より提供された油鮫肝油，1950 年 12 月上旬青森に水揚げされた油鮫の肝臓より採油

された。ビタミンA含量は 13,000U.S.P.U/g，不鹼化物含量は 17.1%。

ビタミン油B

北海道大進産業株式会社より提供されたもので油鮫肝油(ビタミンA2,550 単位)を分子蒸溜した後得た溜分(収量 25 %)である。ビタミンA含量C,525U.S.P.U/g不鹼化物含量 13.65 % 屈折率 n_D^{40} 1.4645

ビタミン油C

北海道大進産業株式会社より提供された油鮫肝油の分子蒸溜油

ビタミンA含量51,000U.S.P.U/g不鹼化物含量 14.5% 屈折率 n_D^{40} 1,4681

I 加工を行わざるビタミン油の分子蒸溜

次に行う一連の実験の対照とするために試料のビタミン油A，B Cにつき 子蒸溜を行つた。その結果を Table 1, 2 及び3に示す。

Table 1. ビタミン油Aの分子蒸溜

Distillation of vitamin oil A

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil		ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total Vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration
		重量 Weight	%				
				U.S.P.U.	$\times 10^5$	%	
原油 Orig. oil	—	(1,020)gr.	—	13,000	132.6	—	—
Fr. 1	220	11.4	1.12	119,000	13.55	10.2	9.16
Fr. 2	230	15.	1.48	146,000	21.9	16.5	11.22
Fr. 3	240	37.	3.63	90,700	33.55	25.3	6.98
Fr. 4	250	75.5	7.4	28,200	21.3	16.05	2.17
Fr. 5	260	130.1	12.77	11,300	14.7	11.1	0.87
残渣 Residue	—	75.1	73.6	1,900	14.27	10.75	0.14

Table 2. ビタミン油Bの分子蒸溜

Distillation of vitamin oil B

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil		ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration
		重量 Weight	%				
				U.S.P.U.	$\times 10^4$	%	
原油 Orig. oil	—	(982)gr.	—	6,350	624	—	—
Fr. 1	240	25	2.54	36,100	90.1	14.4	5.69
Fr. 2	250	24	2.44	51,250	123	19.7	8.08
Fr. 3	260	34	3.46	35,200	119.6	19.2	5.54
Fr. 4	270	73	7.44	17,420	127.2	20.4	2.74
残渣 Residue	—	826	84.2	1,430	117.8	18.9	0.23

Table 3. ビタミン油Cの分子蒸溜

Distillation of vitamin oil C

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil		ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recoverg of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration
		重量 Weight.	%				
				U.S.P.U.	$\times 10^5$	%	
原油 Orig. oil	—	(510)gr.	—	51,000	261	—	—

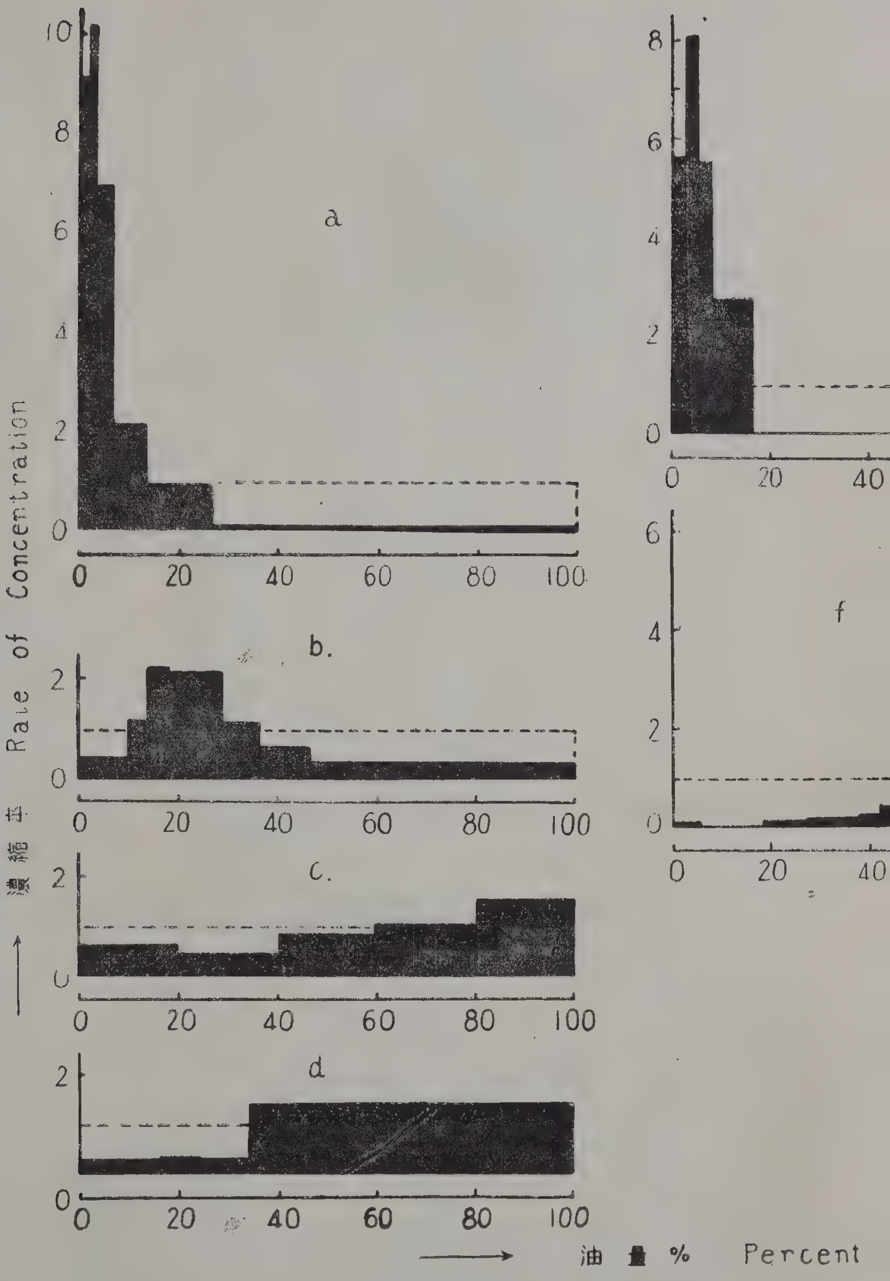


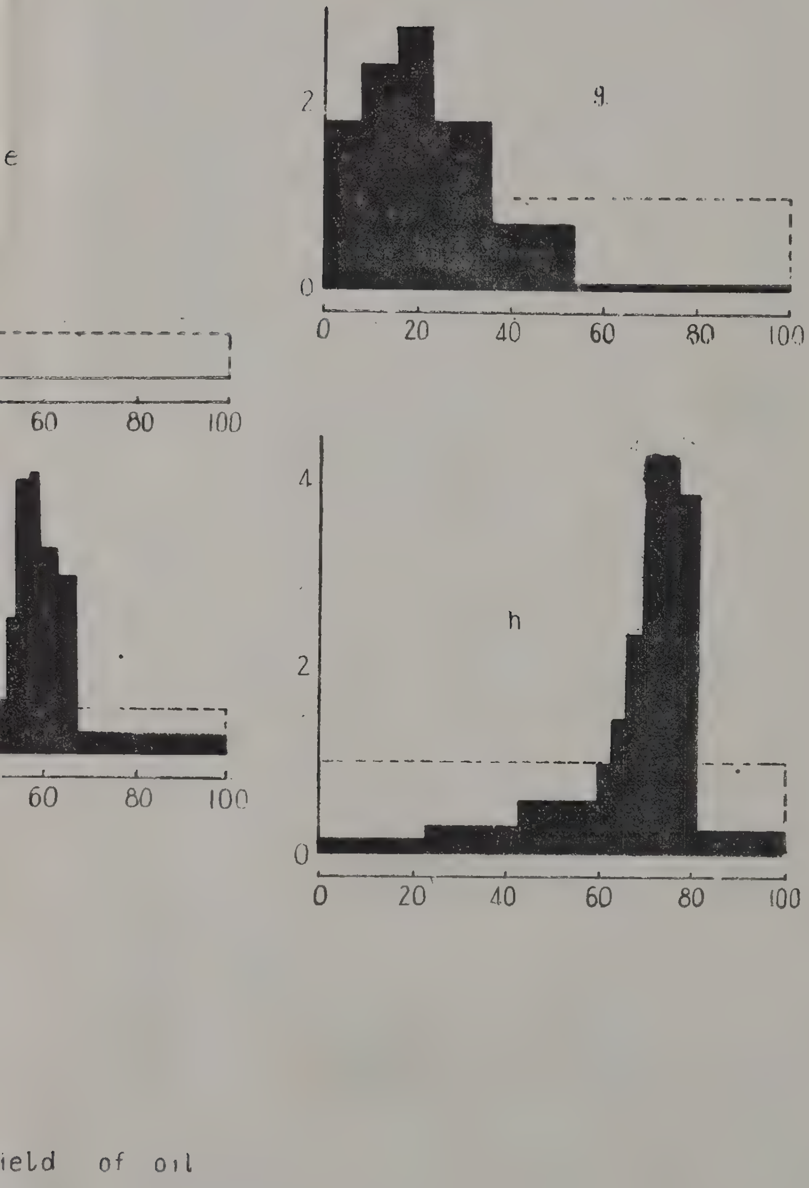
Fig 1. 通常分子蒸溜と加工油の分子蒸溜の
Comparison of distillation of un

ビタミン油Aの通常分子蒸溜 Distillation of unmodified vitamin oil A

Eckey 法処理を行ったビタミンA油の分子蒸溜 Distillation of interesterified vitamin oilA

エステル化したビタミン油Aの分子蒸溜(其の 1) Distillation of transesterified vitamin oil A(Example 1)

エステル化したビタミン油Aの分子蒸溜(其の 2) Distillation of transesterified vitamin oil A(Example 2)



較

ified and modified oil.

e. ビタミン油Bの通常分子蒸溜 Distillation of unmodified vitamin oil B
f. 撰択的にエステル化したビタミン油Bの分子蒸溜 Distillation of selectively esterified vitamin oil B
g. ビタミン油Cの通常分子蒸溜 Distillation of unmodified vitamin oil C
h. 撰択的にエステル化したビタミン油Cの分子蒸溜 Distillation of selectively esterified vitamin oil C

Fr. 1	—	39	7.7	94,000	36.6	14	1.8
Fr. 2	—	40	7.8	124,000	49.7	19	2.4
Fr. 3	—	38	7.5	142,000	54	20.7	2.8
Fr. 4	—	65	12.7	91,000	59.2	22.6	1.8
Fr. 5	—	90	17.6	34,500	31.1	11.9	0.7
残渣 Residue	—	239	46.7	4.420	10.5	4.3	0.09

II ECKEY 法処理を行つた肝油の分子蒸溜

ここに云う ECKEY 法とは Sodium methoxyde (MeONa) を触媒とし，グリセリドの脂肪酸基の相互交換を行う方法のことで Eckey がその方法について詳細に報告している[7]。この処理を行うことによりグリセリドの組成が変革され固体酸と液体酸の Mixed glyceride の混合物より，ある条件では固体酸のみよりなるグリセリドが生成される。ECKEY 法処理を行つた後分子蒸溜をすれば処理せざるものを分子蒸溜した場合とは違つた結果を得ると予想した。

先づビタミン油を精製*後触媒として MeONa が油に対し 0.3% の割合となるように MeONa のメタノール溶液**を加え，50°C 30 分更に氷冷し 30 分攪拌を継続したる後密栓し室温で 42 時間放置する。醋酸を加え中和後室温にて析出せる固体脂を濾別し液体油を得る。この場合得られた液体油の歩留は原ビタミン油の約半分であつたが，そのビタミンA単位は 12,430 U.S.P.U./g で原油の単位 11,600 U.S.P.U./g に比し，単位の上昇は極めて僅かであつた。この油を貯蔵中A単位は 1,0600 U.S.P.U./g となつたが，これを分子蒸溜にかけた。その結果を Table 4 に示す。

Table 4. ECKEY 法処理油の分子蒸溜

Distillation of interesterified vitamin oil A

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil 重量 Weight	溜出油収量 Yield of distilled oil %	ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concent-ration
				U.S.P.U.	×10⁴	%	
原油Orig. oil	—	(430)gr.	—	10,470	450	—	—
Fr. 1	210	41	9.53	4,560	18.7	4.16	0.44
Fr. 2	230	17	3.96	12,400	21.1	4.7	1.18
Fr. 3	270	18.5	4.3	24,040	44.5	9.89	2.21
Fr. 4	300	44.5	10.35	23,620	105	23.4	2.16
Fr. 5	310	33	7.68	12,500	41.25	9.17	1.19
Fr. 6	320	47.5	11.03	6,910	32.8	7.3	0.65
残渣 Residue	—	228	53.15	3,200	73	16.22	0.31

これを（I）の加工を行わざる肝油の分子蒸溜（以下通常分子蒸溜と略す）の結果（Table 1）と比較すれば次の点が特徴のように見受けられた。(Fig 1 参照)

i）最高濃縮溜分の濃縮率は 2.3 倍であつて通常分子蒸溜に於ける最高溜分の濃縮率 11 倍に比し遥かに劣る。

ii）ビタミンA以外の油が低温で多量に溜出して来るのに反しビタミンAは溜出し難くなる様である。

* 脱酸，脱水後油に対し焼成アルミナ 1% 活性鉄 2% を加え不活性ガスを通じつゝ 70°C，15 分間攪拌したる後濾別する。

** ECKEY は MeONa をキシロール中に微細に懸濁させたものを使用したが，我々の装置の関係上かかる良質の懸濁液が得られなかつたので 1cc 中約 200mg の MeONa を含むメタノール溶液を使用した。

即ち Eckey 法処理を行つた肝油に於ては第1溜分と第2溜分で仕込油量の 13.5% を溜出するがビタミンAは僅に 8.86% しか溜出してこない。これに反し通常分子蒸溜に於ては第1，第2，第3溜分を合しても仕込油量の 6.23% にしか当らないが，ビタミンAは 52% も溜出する。

我々の得た結果は油鮫肝油を Eckey 法処理を行い分子蒸溜した場合についてであつて，他の種類の肝油例えばスケソウ肝油や一度分子蒸溜せる肝油の Eckey 法処理を行つた油ではこれと異つた結果が得られることも考えられる。

Ⅲ エステル化したビタミン油の分子蒸溜

(1) グリセリドを尽くメチルエステルとした場合

ビタミン油をアルカリ触媒の下でメタノリシスを行いメチルエステルとし，このメチルエステルを分子蒸溜すればビタミンAを含まぬ脂肪酸のメチルエステルが先に溜出して残渣中にビタミンAが濃縮されるのではないかと考え実験を行つた。中宮[3]も既にこの方法によるビタミンAの濃縮法を発表しているが我々がビタミン油A及びBをエステル化* して蒸溜した結果(Table 5 及び 6)を通常分子蒸溜の結果 (Table 1 及 2) と比較して見ると，確かに低温で溜出する部分はビタミンAを含むこと少く，総ビタミンAの相当量乃至大部分が残渣中に含まれている。しかし濃縮率を見るとエステル化したビタミン油の蒸溜残渣はいづれも2倍に達せず，通常分子蒸溜の場合に比し濃縮率は甚だしく劣つている。(Fig 1 参照) この原因は本実験に於

Table 5. エステル化油の分子蒸溜 (其の1)

Distillation of transesterified vitamin oil A (Example 1)

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil 重量 Weight	%	ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃溜率 Rate of concent-a ion
				U.S.P.U.	×10⁴	%	
原油 Orig. oil	—	(740)gr.	—	12,120	898	—	—
Fr. 1	130	145.3	19.65	7,690	111.7	12.4	0.64
Fr. 2	130	151	20.4	5,670	85.6	9.54	0.47
Fr. 3	150	145.5	19.67	10,390	151	16.8	0.86
Fr. 4	150	155.5	21	13,060	203	22.6	1.08
残渣 Residue	—	142.7	19.3	18,900	269.5	30.0	1.57

Table 6. エステル化油の分子蒸溜 (其の2)

Distillation of transesterified vitamin oil A (Example 2)

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil 重量 Weight	%	ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concent-ration
				U.S.P.U.	×10⁴	%	
原油 Orig oil		(680)gr.	—	12,120	825	—	—
Fr. 1	100	105.7	15.55	3,530	37.4	4.52	0.29
Fr. 2	110	60.3	8.88	4,630	27.9	3.38	0.37
Fr. 3	120	65.7	9.66	3,550	23.38	2.87	0.29
残渣 Residue	—	449.3	65.91	17,220	77.2	93.5	1.42

* ビタミン油に 4 5-N の苛性ソーダを含むメタノールを油の2倍量加え加熱振盪してメチルエステル化し，中和後洗滌する。

けるエステル化ではグリセリドがメチルエステルになると共にビタミン油のエステル型Aが遊離型となり従つて原油の場合よりも低い温度でビタミンAが溜出するためであろう。

（2） 撰択的メタノリシスを行つた場合

（1）に於けるメタノリシスに於てはビタミンAが遊離型となるため分子蒸溜により充分な濃縮率が得られなかつたが，若しメタノリシスの条件を変えることによりグリセリドは殆どメチルエステル化し，一方ビタミンAはエステル型のまゝ残るようになし得るならば，蒸溜に際してビタミンAと他の脂肪酸エステルの分離効率が向上すると考えて撰択的メタノリシスを行つた油について分子蒸溜を行つた。

グリセリドを総てメチルエステルとし，ビタミンAを可及的にエステル型のまゝに止める如き撰択的メタノリシスの最適条件はエステル化に関係する要因，例えば反応温度，触媒量，メタノール量，反応時間等を吟味すれば求め得る筈であるが，著者等は差当り反応温度及び触媒量を一定にしメタノール量及び反応時間を変え，エステル化及びエステル型Aの残存率を検することにした。エステル化の進行状況を知るには処理した油の屈折率を測定する方法により，エステル型ビタミンAの定量はクロマトグラフ法によつた。その結果を Fig 2 に示す。

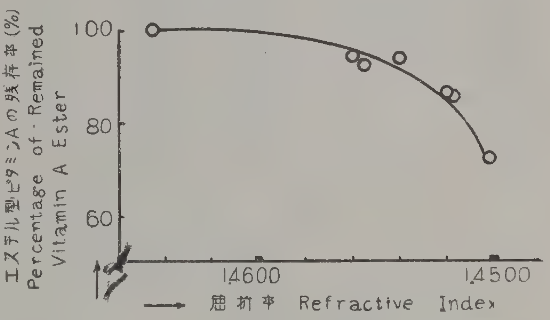


Fig. 2. エステル化の進行に伴う残存エステル型A量の変化
Change in the remaining amount of vitamin A ester in the course of selective esterification.
（反応温度 Reaction temperature : 16.6°C
触媒量 Amount of catalyst : 0.3%）

即ち当初屈折率が 1,4645 であつた試料油はエステル化の終了時に屈折率 1,4500 となるが，エステル型ビタミンAはエステル化が終りに近づくに従つて急速に遊離型に変る。ビタミンAを 100%エステル型で残存せしめ，グリセリドを 100%メチルエステルとすることは殆ど不可能と思われたから，ビタミンAを 80~90% 程度エステル型として残存せしめ，グリセリドを出来るだけメチルエステル化する撰択的メタノリシスの条件として次の如き方法を採用した。

即ち 16.6°C にあたためたビタミン油 500g に触媒として MeONa のメタノール溶液 90cc(Na を油に対し 0.3%の割合で含む）を攪拌しつゝ加え，なお8分間攪拌を継続したる後氷醋酸 4cc を加えて中和し，分液濾斗に移し静置すればグリセリン層を分離する。これを除いた上層のメチルエステルを取り，湯煎上で減圧吸引加熱しメタノール除去，脱ガスする。

この方法によつてビタミン油B（屈折率 n_D^{40} 1.4645）及びビタミン油C（屈折率 n_D^{40} 1,4681）より夫々得たメチルエステルB（屈折率 n_D^{40} 1.4532，総ビタミンAに対するエステル型ビタミンA量 87.5%）及びメチルエステルC（屈折率 n_D^{40} 1.4582）を分子蒸溜した結果を Table 7，8 及び9に示す。

この結果を通常分子蒸溜の結果（Table 2 及び3）と比較すれば次の特徴を有す。（Fig 1 参照）

i） 初めに低温で溜出する部分が多くなる結果最高濃縮溜分を得る迄に長時間を要する。

ii） 濃縮ビタミンAの回収率及び濃縮率は原料ビタミン油の種類によつて異る。ビタミン油Bの場合は処理を行つたものの蒸溜結果（Table 9）と通常分子蒸溜の結果（Table 2）とに於てビタミンA濃縮部分の収率及び濃縮率の比較をすると Table 10 の如くなる。概して回収率及び濃縮率のいづれも通常分子蒸溜の結果より劣るが溜分の取り方によつて，例えばメタノリシス処理肝油の溜分 7~10 の合計は通常分子蒸溜の場合溜分 1~3 の合計より濃縮率に於ては劣るが回収率やゝまさり，又溜分 1~4の合計と比較すれば回

Table 7. 撰択的エステル化油の分子蒸溜

Distillation of selectively esterified vitamin oil B

	温度 Temporature °C	溜出油収量 Yeild of distilled oil 重量 Weight	%	ビタミンA単位 Vitamin A petency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concent-ration
				U.S.P.U.	$\times 10^4$	%	
原油 Orig. oil	—	(900)gr.	—	6,350	572	—	—
Fr. 1	90	68	7.56	765	5.2	0.91	0.12
Fr. 2	105	95	10.55	446	4.24	0.74	0.07
Fr. 3	130	83	9.23	984	8.17	1.43	0.16
Fr. 4	130	66	7.34	1,188	7.84	1.37	0.18
残渣 Residue	—	588	65.32	9,250	544	95	1.45

Table 8. 撰択的エステル化油の分子蒸溜

(Table 7 の残渣を更に蒸溜せる場合)

Distillation of selectively esterified vitamin oil B

(Further disitillation of residue in Table 7)

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yield of distilled oil 重量 Weight	%	ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率[b] Recovery of vitamin A	濃縮率[b] Rate of concent-ration
				U.S.P.U.	$\times 10^4$	%	
原油 Orig. oil[a]	—	(1,035)gr.	—	9,250	957	—	—
Fr. 1	130	55	5.31	1,136	6.25	0.65 (0.62)	0.12 (0.18)
Fr. 2	140	61	5.9	1,670	10.2	1.07 (1.02)	0.18 (0.26)
Fr. 3	165	46	4.44	2,510	11.55	1.21 (1.15)	0.27 (0.395)
Fr. 4	190	61	5.9	3,710	22.62	2.36 (2.22)	0.4 (0.58)
Fr. 5	210	52	5.03	7,600	39.5	3.81 (3.62)	0.82 (1.20)
Fr. 6	230	29	2.8	18,400	53.4	5.15 (4.89)	1.99 (2.90)
Fr. 7	250	53	5.12	37,220	197.3	20.64 (19.6)	4.02 (5.85)
Fr. 8	255	28	2.7	38,300	107.1	11.2 (10.6)	4.14 (6.03)
Fr. 9	265	69	6.71	27,900	192.5	20.2 (19.2)	3.02 (4.40)
Fr. 10	275	58	5.6	22,700	131.5	13.75 (13.05)	2.46 (3.58)
残渣 Residue		523	50.5	2,900	151.7	15.75 (14.95)	0.31 (0.46)

a Table7 の蒸溜を同じ条件で2度行い，その残渣を合して原油とす。

Original oil is the residue in Table 7, mixed with that of another distillation under the same condition.

b 括弧内の数字は Table 7 の原油に対して計算した値

Figures within parenthesis have been calculated for the original oil in Table 7.

収率は劣るが濃縮率はやゝまさる結果となる。

Table 9. 撰択的エステル化油の分子蒸溜

Distillation of selectively esterified vitamin oil C

	温度 Temperature °C	溜出油収量 Yeild of distilled oil 重量 Weight	%	ビタミンA単位 Vitamin A potency	総ビタミンA量 Total vitamin A	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration
原油 Orig. oil	—	(1,330)gr.	—	U.S.P.U. 50,000	×10³ 6650	% —	
Fr. 1	—	298	22.4	7,720	229.6	3.45	0.15
Fr. 2	—	268	20.15	15,100	405	6.09	0.30
Fr. 3	—	227	17.05	28,300	642	9.65	0.57
Fr. 4	—	43	3.23	49,200	211.6	3.18	0.98
Fr. 5	—	31	2.33	71,900	222.9	3.37	1.44
Fr. 6	—	51	3.84	117,000	596.7	8.97	2.34
Fr. 7	—	98	7.37	213,000	2087.4	31.4	4.26
Fr. 8	—	59	4.44	193,000	1141.6	17.45	3.86
残渣 Residue		296	19.3	25,370	650	9.77	0.51

Table 10. 通常分子蒸溜及び撰択的エステル化油の分子蒸溜に於けるA回収率と濃縮率の比較

Comparison of the vitamin A recovery with the concentrating rate in the distillation of unmodified and selectively esterified oils

油の種類 Kind of oil	通常分子蒸溜 Distillation of unmodified oil 溜分 Fraction	A回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration	撰択的エステル化油の分子蒸溜 Distillation of selectively esterified oil 溜分 Fraction	A回収率 Recovery of vitamin A	濃縮率 Rate of concentration
ビタミン油 B Vitamin oil B	1～2	34.1%	6.85	7～8	30.2 %	5.92
	1～3	53.3	6.33	7～10	62.5	4.75
	1～4	73.7	4.65	5～10	67.4	4.54
	2	19.7	8.08	8	10.6	6.03
ビタミン油 C Vitamin oil C	3	20.7	2.8	7	31.4	4.26
	2～3	39.7	2.59	7～8	48.9	4.12
	1～4	76.3	2.15	5～8	61.0	3.37

又ビタミン油Cの如く一度分子蒸溜を行つた比較的高単位の油を再溜する場合，この処理を行つてから蒸溜すれば Table 10 に示す如く加工せざる肝油の蒸溜結果に比しビタミンA濃縮率はいづれも高くなり，且回収率も概して優つている。ただ溜分5～8の合計に至つて初めて通常の蒸溜の場合に於ける溜分1～4の合計よりも回収率が落ちるがこの場合にあつてもビタミンAの濃縮率は優つている。

以上の結果より考察するにこの方法の特徴は次の如くであろう。

i） 酸価が著しく高く遊離型ビタミンAの多い肝油は遊離型ビタミンAが低温で溜出する故ビタミンA回収率，濃縮率を低下させる結果となるが，分子蒸溜せるビタミン油の如く脱水，脱酸の必要なく使用せられ且ビタミンAと共に溜出するA以外の物質を多く含み，ビタミンAは殆どエステル型で存在する油の再溜に際しては有利である。

ii） 通常分子蒸溜に於ては溜分は主としてビタミンAを多量に含むグリセリド或は高級アルコールエステルであるが，撰択的メタノリシスせる油の分子蒸溜に於ては脂肪酸の大半をビタミンAを含まぬメチルエステルとして得られる。グリセリドの損失や蒸溜経費が問題とならないような高単位の分子蒸溜油を再溜する必要が生じた時等にはこの方法を採用すれば有利である。

摘　　要

ビタミン油を加工処理した後，分子蒸溜してビタミンAの濃縮効果を検討した。

i ）Eckey の方法によりグリセリドの脂肪酸基の相互交換を行つたビタミン油はそのまゝ蒸溜した場合に比し低温で溜出してくる油の量が増す反面ビタミンAはやゝ蒸溜し難くなる。濃縮率はビタミン油をそのまゝ蒸溜せる場合に比して劣つていた。

ii ）メチルエステル化したビタミン油を分子蒸溜した結果は，メチルエステルが低温で多量に溜出し残渣中にビタミンAを残すが，ビタミンAの可成の部分が遊離型となりメチルエステルと共に溜出してくる結果濃縮率はビタミン油をそのまゝ分子蒸溜した場合に比して遙に劣る。

iii）ビタミン油をビタミンAがなるべくエステル型で残り且つグリセリドをなるべくメチルエステルとするような条件で撰択的にエステル化した後分子蒸溜する場合はメチルエステルが低温で大部分溜出した後ビタミンが溜出してくる。この場合の濃縮率は ii）の場合に比して遙かに高く，ビタミン油をそのまゝ蒸溜した場合に比しても原料のビタミン油の種類によつては優つた結果が得られる。

（本研究費の一部は文部省科学研究費によつた。）

文　　献

1）東　秀雄，平尾秀一，衣巻豊輔，清水和子：日水誌，**14**，36（1948）．
平尾秀一，衣巻豊輔，清水和子：日水誌，**15**，615（1950）．
佐橋佳一，中山照彦，平尾秀一，衣巻豊輔：日水誌，**16**，46（1950）．

2）表　美守：工化 **52**，21（1949），**54**，589（1951）．
石川清一，表　美守，相馬義孝：工化，**52**，22（1949）．

3）上野誠一，小森三郎，阿河利男：工化，**52**，67（1949）．

4）小森三郎，菊地正士，蜂谷謙一，新村　晃．阿河利男：工化，**54** 225（1951）．

5）山川健重，森高次郎：日水誌，**18**，645，675（1953）．
山川健重，鴻巣章二，森高次郎：日水誌，**19** 155（1953）．

6）阿河利男，小森三郎，西村洋一：油脂化学協会誌 **1**，12（1952），

7）E.W. Eckey：Ind. Eng. Chem.，**40**，1183（1948）．

8）中宮次郎：特許 **160,588** 12，13，（1943）．

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—II. 鹼化法によるビタミンAの濃縮(その1) 高橋法の追試

新間彌一郎・衣巻豊輔
(東海区水産研究所)

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—II. Concentration of Vitamin A by Saponification 1. Reexamination of TAKAHASHI's Method

Yaichiro SHIMMA and Toyosuke KINUMAKI

In view of the recent remarkable progress in synthetic manufacturing of vitamin A, it is urgently needed to study procedures for extracting from fish liver oil pure vitamin A or vitamin A concentrate which is as much odourless and tasteless as possible. Because it is felt that the time will not be long before the fish liver oil produced in Japan losses its oversea market, unless such a study as stated above brings forth a successful result applicable to the industrial scale. However, few efforts have been paid in this direction here in this country since TAKAHASHI reported his methods for vitamin A extraction in 1925. Having closely examined two of TAKAHASHI's methods (B and C), we came to the conclusion that they are to much defective to be used for preparing from fish liver oil vitamin A concentrate which is comparable with synthetic vitamin A in quality as well as in cost.

In TAKAHASHI's method B, vitamin A in the saponified solution is to be concentrated when a large part of fatty acids is separated as alkali soap after adding aceton to the alcoholic solution; in the method C, fatty acids are separated as insoluble soap by adding metalic salts such as Ca, Ba, or Sr to concetrate vitamin A into organic solvent such as alcohol.

The results obtained from the experiments are as follows.

a) In TAKAHASHI's method B, extraction of vitamin A is almost completely performed, but soap of highly unsaturated acids can not be separated. Consequently, vitamin A thus extracted is lower in the rate of concentration than that of usual ether extraction (table 2).

b) The recovery rate of vitamin A in the method C is not so perfect as that in the method B, and the mixed soap is greater in amount than in the ether extraction (table 3, 4 and figure 1).

c) Precipitated calcium soap in the method C has contained a considerable amount of vitamin A. The fact seems to suggest that vitamin A may not be extracted as throughly as one

1954 年 7 月 24 日受理 (印刷費負担) 東海区水産研究所業績 B 第 156 号

intends, even if the extraction is performed after boiling the soap with alcohol. Moreover, vitamin A potency in the extract by this treatment is lower than that of the first extract (table 5).

d) Method C using methanol, ethanol or benzene-methanol mixture is also examined. Vitamin A recovery by this methcd is lower than that of usual ether extraction (table 6).

緒　　言

著者等は前報[1]に於て加工油の分子蒸溜に就いて報告し，合成ビタミン A の進出に対抗する為には単に分子蒸溜法のみに固執することの不可なる所以を述べたが，本報に於ては鹼化法によるビタミン A 濃縮物に関する研究に就いて報告する。

鹼化法に就いては 1924 年に高橋克己氏が一般に高橋法として知られているビタミン A の抽出法を発表し，外国に先んじて工業的に成功して以来，今日迄殆ど特記すべき研究は行われていない。著者等は高橋法を追試し，合成ビタミン A に対抗する為の経済的抽出法として使用し得るものであるか否かを検討した。

実 験 の 部

高橋がビタミン A の抽出に関して報告せる方法は次の如きものである。

高橋法（A）[2] ビタミン油を鹼化し脂肪酸をカルシウム塩（又はバリウム，ストロンチウム塩）に変じてアルコール可溶性物を抽出し，抽出物をエーテル・石油エーテルの如き有機溶剤にて処理し，これにビタミンを移行せしめてグリセリン，無機成分等を除き更に残存せる脂肪酸をアルカリ塩又は銀塩として除いた後溶剤を蒸発して粗製ビタミンを抽出する。

高橋法（B）[3] ビタミン油を酒精性アルカリで加水分解し，これにアセトンを加えてアルカリ塩をアセトン及びアルコールの混合溶液中にて析出分離し，脂溶性ビタミンをアセトン及びアルコール可溶物として抽出する。

高橋法（C）[4] ビタミン油の脂肪分をカルシウム，バリウム，ストロンチウム等アルカリ土金属石鹸の如きアルコール，エーテル，ベンゾール等の有機溶剤に不溶性なる物質に変じて可及的にこれを除去し，ビタミンをこれらの溶剤に移行する。

以上三法の内，高橋法（A）は追試の結果，抽出物に対し可成多量のエーテル或は石油エーテルを必要とする事を知つた。従つて経済的抽出法とは考え難く，本研究の吟味からは除外し，高橋法（B）及び（C）に就て吟味することにした。

供試肝油

実験に供せる油鮫肝油は沃素価 105.2，ビタミン A 含量 9300 u.s.p.u. 鹼化後エーテルを以て不鹼化物を抽出定量せる際の収量並びにそのビタミン A 単位を第1表に示す。尚本実験に於けるビタミン A 単位は $E^{1\%}_{1\,cm}$ 328 mμ（原油の場合）或は $E^{1\%}_{1\,cm}$ 325 mμ（不鹼化物の場合）に 1900 を掛けて得られた値ですべて補正していない。

Table 1. 供試油鮫肝油の不鹼化物
Unsaponifiable matter of dog fish liver oil used

不鹼化物含量 Unsap. (%)	ビタミンA単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio E 300 mμ/E 325 mμ	ビタミンA抽出率 Recovery of vithmin A
13.86	65,700 U.S.P.U.	0.657	97.9 %

高橋法（B）に就いて

（実施例 1） 供試肝油 10 g にエチルアルコール（或はメタノール）20 cc，苛性ソーダ 2.2 g（同量の水に溶解）を加え，30 分間加温鹼化したる後アセトン 60 cc を加え 10 分間煮沸し室温に放冷す。冷後析出

せる石鹸を吸引濾別し，濾紙上の石鹸をアセトン 20 cc ずつを以て2回洗滌す。濾液及び洗滌を併せ溶剤を溜去後，石油エーテルを加え，醋酸々性として抽出，水洗後石油エーテルを溜出す。抽出結果を第2表に示す。

Table 2. 高橋法（B）に依る抽出
Extraction by TAKAHASHI's method (B)

鹼化に使用した溶剤 Solvent used for saponification	抽出物収量 Yield of extract	ビタミンA単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio E 300 mμ/E 325 mμ	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
	%	U.S.P.U.		
90 % エチルアルコール Ethanol	19.25	50,000	0.680	103.5
市販純メタノール Absolute methanol	19.60	46,840	0.691	98.6

本法は外山が高度不飽和脂肪酸の分離法として報告せる「ソーダ塩アセトン法」[5] と全く同様であり，従つて得られた抽出物中には多量の高度不飽和脂肪酸を含んでいる事は明である。その結果本法に依る抽出物は第1表のエーテル抽出物に比して重量は多く従つて単位は低い。又第2表の抽出率は第1表の抽出率より寧ろ高い結果を示しているが，これは抽出物中の脂肪酸含量が大きく且供試肝油が低単位であつた為に脂肪酸の吸収が大きく影響したものと思われる。このことは ratio の比較からも推察される。

即ち高橋法（B）に於ては極めて良好なる抽出率を以てビタミンAを大部分の石鹸と分離する事は出来ても，尚抽出物中に残存する脂肪酸を除去する為に何等かの操作がとられなければならない。第2表に示された抽出物の少くとも 30 %は主として高度不飽和酸より成る脂肪酸と推定される。

本法に於てはアルコール量に対しアセトン使用量が大なる為にエチルアルコールとメタノールとの相違による影響は小さい。

高橋法（C）に就いて

高橋は原油に対し4倍量のエチルアルコールを用いカルシウム石鹸を沈澱せしめ好収量を以てビタミンAを抽出し得たと報告している[6] が，溶剤としてはメタノールの方が遙かに安価であり，メタノールを用い得るならば本法は更に経済的な抽出法になると思われる。そこで著者等はエチルアルコール及びメタノールを用いて本法の追試を行つた。

（実施例2） 供試肝油 10 g を採り実施例1と全く同様な条件で鹼化したる後，塩化カルシウム溶液* 20 cc を添加10分間加温す。冷後沈澱を濾別し，分離せる沈澱は 20 cc 宛のエチルアルコール（或はメタノール）を以て2回洗滌す。濾液及び洗液を併せアルコールを溜去せる後，石油エーテルを加え醋酸々性となし抽出，水洗後石油エーテルを溜去す。抽出結果を第3表に示す。

Table 3. 高橋法（C）に依る抽出
Extraction by TAKAHASHI's method (C)

使用溶剤量 Volume of solvent used	抽出物収量 Yield of extract	ビタミンA単位 Vitamin A potency	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
	%	U.S.P.U.	%
4倍量 98 %エチルアルコールの場合 Ethanol, 4 times as of the oil	14.4	52,500	81.3
4倍量市販純メタノールの場合 Absolute methanol, 4 time sas of the oil	9.11	63,440	62.1

即ちビタミンA抽出率はエチルアルコールを使用した場合には 81.3 % であるが，メタノールでは僅に 62.1 %に過ぎなかつた。

* 20 g の無水塩化カルシウムを 100 cc のエチルアルコール（或はメタノール）に溶解せるもの。

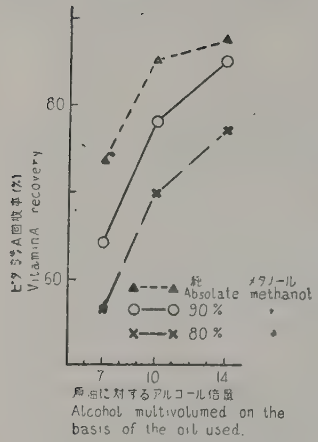


Fig. 1. アルコールの使用量及び濃度とビタミンA抽出率との関係
Relation of vitamin A recovery with volume of alcohol in various concentration.

i） 使用するアルコール量及び濃度と抽出率との関係

次に使用するアルコール量を増加した場合の抽出率の変化を検討した。（実施例2）と同様に鹸化したる後，アルコール 30 cc，60 cc，100 cc を追加し，アルコール量が原油に対し夫々7倍，10倍，14倍の場合（エチルアルコールに於ては7倍のみ）につき実験した。尚添加する塩化カルシウム溶液量はすべて同一であつた。又使用するアルコール濃度の低下による抽出率の変化に就いても検討した。これらの結果を第4表及び第1図に示す。

即ちメタノールはエチルアルコールと同量ではビタミンAの抽出率は遙かに低く，可成り大量のメタノールを用いなければ充分な抽出を行う事が出来ない。又メタノールは濃度が低下するにつれ抽出率も急激に低下する。尚10倍量メタノールの抽出率85.4%に対し14倍量使用しても抽出率が 87.6 %に留ることは，高橋法（C）に於てビタミン A の抽出率を向上せしめる為には単にアルコール量を増加するだけでは不充分であると思われる。これはカルシウム石鹸が沈澱する際に内部にビタミン A を包含してしまう結果であり，（実施例2）の如く分離せる石鹸を単に洗滌するだけではこの様な A を抽出する事が出来ない。

ii） 沈澱せる石鹸よりのビタミン A の抽出

沈澱せる石鹸内部に包含されたビタミン A を抽出する為に，沈澱にアルコールを加え加温抽出を行つてみた。

Table 4. アルコールの使用量及び濃度とビタミンA抽出率（%）との関係
Relation of vitamin A recovery (%) with volume of alcohol in various concentration

使用溶剤の種類及び量 Kind and volume of solvent used	アルコール濃度 Concentration of alcohol (wt. %)		
	純 Absolute	90 %	80 %
7倍量エタノールの場合 Ethanol, 7 times as of the oil	(84.2)*	——	82.5
7倍量メタノールの場合 Methanol, 7 times as of the oil	73.7	64.4	56.5
10倍量メタノールの場合 Methanol, 10 times as of the oil	85.4	78.4	70.0
14倍量メタノールの場合 Methanol, 14 times as of the oil	87.6	85.4	77.2

* 局方純エチルアルコール（98 %） Absolute ethanol of Jap. Phar.

（実施例3） 供試肝油 10 g を採り，既に述べたるが如き操作により原油に対し7倍量のエチルアルコール（或はメタノール）を用いて抽出物を得る（之を第一次抽出物とする）。この際分離せるカルシウム石鹸に新にエチルアルコール（或はメタノール）30 cc を加え 20 分間煮沸す。冷後沈澱を濾別し分離せる沈澱は 20 cc 宛のアルコールを以て2回洗滌す。抽出液及び洗液を併せ溶剤を溜去後，石油エーテルを加え醋酸々性とし抽出，水洗後石油テエールを溜去す。（これを第二次抽出物とする）。これらの結果を第5表に示す。

即ち分離せる石鹸の抽出に依つて得られる第二次抽出物は第一次抽出物に比してビタミン A 濃度が遙かに低く，ビタミン A と同時にカルシウム石鹸も可成りエチルアルコール或はメタノール溶解してくる事を示している。亦カルシウム石鹸は甚だ強固な固りをなしている為に，この様な加温抽出に依つても，尚徹底

Table 5. 第1次抽出物と第2次抽出物との比較
Comparison of first and second extracts*

	使用溶剤量 Volume of solvent	抽出物収量 Yield of extract	ビタミンA単位 Vitamin A potency	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
		%	U.S.P.U.	%
第1次抽出物 First extract	7倍量エチルアルコールの場合 Ethanol, 7 times as of the oil	21.75	36,000	84.2
第2次抽出物 Second extract	3倍量エチルアルコールの場合 Ethanol, 3 times as of the oil	3.90	23,500	9.86
第1次抽出物 First extract	7倍量メタノールの場合 Methanol, 7 times as of the oil	12.22	56,000	73.7
第2次抽出物 Second extract	3倍量メタノールの場合 Methanol, 3 times as of the oil	3.10	29,700	9.95

* First extract is obtained from soap solution after separiating soap
Second extact is recovered from the separated soap after boiling it with solvent.

的にビタミンAを抽出する事は難しく，第一次及び第二次抽出率の合計はエチルアルコールでは94％，メタノールでは83.6％に留る。

iii） ベンゾール添加メタノールに就いて

分離せる石鹼に上記の如き加温抽出を繰返し行う事は繁雑であり且経済的な方法とは考え難い。亦第4表よりメタノールを使用せる場合にはビタミンA抽出率が低い事が明であるので，メタノールにベンゾールを添加して用いる事により不鹼化物の溶解性を増大せしめ，ビタミンA抽出率の向上を計つた。即ち原油に対しメタノール6，ベンゾール1，及びメタノール4，ベンゾール3の割合の混合溶剤を用いて抽出を行つた結果を第6表に示す。

Table 6. ベンゾール添加メタノールにによる抽出
Extraction with methanol-benzene mixture

使用溶剤量 Volume of solvent used	抽出物収量 Yield of extract	ビタミンA単位 Vitamin A potency	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
	%	U.S.P.U.	%
6倍量メタノール及び1倍量ベンゾールの場合 Methanol, 6 times and benzene, 1 time as of the oil	16.6	44,200	79
4倍量メタノール及び3倍量ベンゾールの場合 Mehtanol, 4 times and benzene, 3 times as of the oil	20.67	38,430	85.5

第6表の結果を第5表のメタノールのみ7倍量用いた結果と比較すれば，ベンゾールの増量に伴いビタミンA抽出率は向上するが，抽出物重量も増加する為に抽出物のビタミンA濃度は低下する。これはカルシウム石鹼がベンゾールの増量によつて抽出され易くなる為である。亦ベンゾールの添加量が増大するにつれ分離する石鹼は多量の溶剤を含む様になり軟弱となる。

iv） 不鹼化物含量多き高単位肝油に就いて

油鮫肝油に於ては既に述べたる如く，高橋法（C）に依つては満足すべき結果を得る事は出来なかつたが，不鹼化物含量多き高単位肝油に就いては充分満足すべきビタミンAの抽出を行う事が出来る。亦混入する脂肪酸に対しては次の如き操作に依つて之を殆んど防止する事が出来ると思われる。

（実施例4） 分子蒸溜せる鱈肝油（102.5万U.S.P.U.）30gに94％エチルアルコール90cc，苛性ソーダ5.4g（同量の水に溶解）を加え，30分間加温鹼化したる後更に60ccのアルコールを追加す。塩化カルシウム溶液（実施例2参照）60ccを添加10分間加温す。冷後沈澱を濾別し，分離せる沈澱にアルコール90ccを加え加温抽出す。冷後先に得られた抽出液と併せアルコールを蒸溜，殆んど完全に溜去する。こゝに得られた抽出物は既に述べた如く若干のカルシウム石鹼を混入する。この抽出物にアセトン80ccを加え20分

間加温する。アセトン不溶の沈澱には更にアセトン 80 cc を加え加温抽出する。抽出結果を第7表に示す。

Table 7. 高単位鯨肝油に於けるビタミン A 抽出
Extraction of vitamin A from high potency whale liver oil

	抽出物重量 Wt. of extract	抽出物収量 Yield of extract	ビタミンA単位 Vitamin A potency	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
	gr	%	U.S.P.U.	%
アセトンに依る第 1 次抽出物 First extract with acetone*	11.9	39.7	2,248,000	87.1
アセトンに依る第 2 次抽出物 Second extract with acetone*	1.68	5.6	2,070,000	11.3

* See the foot note of table 5 for 1st and 2nd extract

v) 其の他の金属石鹸

著者等はカルシウム以外にマグネシウム及び鉄石鹸につき試験したる結果いずれもカルシウム石鹸よりビタミン A 抽出率が劣る事を知つた。亦鉄石鹸の場合にはしばしばビタミンAが破壊される事を認めた。これは使用せる鉄塩の酸性が強いためか或は鉄イオンの酸化によるのかを確認するに到らなかつた。

考　　察

高橋法の如く石鹸を洗滌除去してビタミン A を抽出せんとする方法に於ては低単位油鮫肝油を試料とした場合，次の如き結果が認められた。

1) ビタミン A 抽出率が良好なる場合には抽出物重量が多く抽出物中に多量の脂肪酸が混入して来て，抽出物中のビタミン A 濃度は低い。

2) 抽出物中のビタミン A 濃度が高い場合には即ち抽出物中に脂肪酸の混入が比較的少い場合にはビタミン A の抽出率は低い。

即ち沈澱法に於て良好なる抽出率を挙げるためには沈澱する石鹸がその内部にビタミン A を包含しない状態でなければならない。飽和及び低度不飽和脂肪酸–石鹸は比較的簡単にかゝる状態に導く事が出来る*が之に反し沃素価高き脂肪酸の石鹸はその様な状態に導く事が出来ない。且高度不飽和酸の金属石鹸は多くの溶剤にかなり高い溶解性を示す事が既に知られている[7]。従つてビタミン A の損失なしにかゝる脂肪酸の石鹸を沈澱せしめる方法は少くとも現在迄には知られていない。

又一旦ビタミン A を内部に包含せる状態で沈澱せる石鹸では石鹸を溶解せずには完全にビタミン A を抽出する事は出来ない。要するに高橋法の如き沈澱法では脂肪酸の混入なしにビタミン A の抽出を完全に行う事は出来ないし、抽出を完全にすれば相当量の脂肪酸の混入を防ぐ事は出来ない。これは高橋法の避け得られぬ欠点である。

尚高橋法 (C) に於ては肝油中の不鹸化物或は高度不飽和脂肪酸の含量の相違に依つて，ビタミン A 抽出結果は著しく影響を受けるものと思われる。即ち不鹸化物含量多き高単位鯨肝油分子蒸溜油に就いては，油鮫肝油の場合に比して極めて良好な結果が得られる。

摘　　要

著者等は低単位油鮫肝油を試料として高橋の報告せる二つのビタミン A 抽出法を追試検討せる結果

1) 高橋法 (B) ではビタミン A の抽出は殆ど完全に行い得るが同時に抽出物中に高度不飽和脂肪酸を

* 例えば高橋法 (B) 即ちソーダ塩，アセトン法の場合或は著者等が次報に述べるソーダ塩，メタノール法の如きはこれに属する。かゝる状態に於ては濾別せる石鹸を単に洗滌する事によりビタミン A は完全に濾液及び洗液中に移行する。

混入する。

2) 高橋法（C）ではビタミンAの抽出率が低いばかりでなく抽出物中に多量の脂肪酸を混入する。

3) 高橋法（C）に於て沈澱するカルシウム石鹼は相当量のビタミンAを包含しこれを煮沸抽出しても尙徹底的にビタミンAを抽出する事は難しく，且つこゝに得られる抽出物中のビタミンA濃度は第一次抽出物に比して著しく低い。

4) メタノール，エチルアルコール及びベンゾール，メタノール混合を用いて高橋法（C）を行つたが，ビタミンAの抽出率はいずれもエーテル抽出の場合に比して劣る。

5) 不鹼化物含量多き高単位鯨肝油に就いて高橋法（C）を行つた場合にはビタミンA抽出率は良好であつた。

以上の諸点から高橋法は合成ビタミンAに対抗する為の経済的抽出法としては一般には満足すべきものでない事を認めた。

尙本研究に当り終始御鞭撻を与えられた東秀雄博士並びに実験に協力された神林，天野両氏に謹んで深謝の意を表する。

文献

1) 東秀雄，新間彌一郎，衣巻豊輔：日水会誌，**20** 328 (1954).

2) 高橋克已：特許，第 60050 号 (1924).

3) 同　上：特許，第 64436 号 (1925).

4) 同　上：特許，第 66416 号 (1925).

5) 外山修之，土屋知太郎：東工試 **22** (1) 4 (1926).

6) K. Takahashi, Z. Nakamiya, K. Kawakami and T. Kitasato: Sci. Pap. I.P.C.R. **3** (No. 32) 82 (1925).

7) 辻本満丸，本村包介：東工試 **21** (6) 37 (1926).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—III. 鹼化法によるビタミンAの濃縮(その2) 沈澱法

新間彌一郎・衣巻豊輔
（東海区水産研究所）

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—III. Concentration of Vitamin A by Saponification 2. Precipitating Method

Yaichiro SHIMMA and Toyosuke KINUMAKI

In the previous report, we concluded that TAKAHASHI's method is not suitable to obtain vitamin A concentrate comparable with synthetic vitamin A. So, we studied two other methods which are more effective to concentrate vitamin A by precipitating soap.

i) Sodium salt-methanol method.

Oil is saponified with methanolic NaOH and then CO_2 gas is blown into the soap solution. By this treatment, part of soap is precipitated. And the precipitated soap is filtered and washed with cold methanol. Vitamin A is concentrated in the methanol solution. Let us call these procedures sodium salt-methanol method.

It should be noted that if CO_2 gas is not blown into soap solution, soap would be separated out in gel like form after cooling so as to make difficult filtration.

The fatty acids recovered from the precipitated soap (fatty acids-I in table 1) mainly consist of saturated and lowly unsaturated ones. Consequently vitamin A concentrate by this method contains the soap of fatty acids of higher unsaturation (fatty acids-II and -III in table 1).

A part of unsaponifiable matter is removed by this method. table 2).

ii) Calacium salt-acetone method

If the extract by sodium salt-methanol method is dissolved in acetone, soap of fatty acids-II as in table 1 except highly unsaturated ones (fatty acids-III in table 1) will be precipitated and removed. After this treatment, methanol containing Ca salt is added into the solution. Filter Ca soap from the solution and acidify the remaining from which acetone has been distilled out. Extract vitamin A from the remaining with petroleum ether to be washed with water. Thus the extract containing a very few amount of fatty acids is obtained. These procedures may be called calcium salt-acetone method.

1954年10月16日受理 東海区水産研究所業績B第172号（印刷費負担）

Vitamin A potency of the extract thus obtained is higher than that of TAKAHASHI's method, because the amount of fatty acids contaminated in the former method is by far lower than in the latter (table 4).

But this method is not suitable for economical manufacture of vitamin A, for recovery rate of vitamin A is lower than that of usual ether extraction because of losing non-washable vitamin A in the Ca soap.

緒　　言

著者等は前報[1]に於て高橋法を追試検討した結果，合成ビタミン A に対抗する為の経済的抽出法としては高橋法は不適当なることを指摘した。其の後更に，石鹼を沈澱除去してビタミン A を抽出する方法について研究を進めた結果，新しき知見を得たので報告する。

実験の部

I） ソーダ塩メタノール法*

苛性ソーダ及びアルコールを以て油脂を鹼化した後，反応液を冷却すれば石鹼が析出する。この場合析出せる石鹼を吸引濾別に依つて分離することは容易ではない。然るに鹼化終了後炭酸ガスを吹込み，過剰の苛性ソーダの大部分を炭酸ソーダとして沈澱せしめたる後に放冷すれば，飽和脂肪酸及び低度不飽和脂肪酸の石鹼は析出沈澱し，この沈澱を吸引濾別すれば容易に此等脂肪酸を分離することができる。著者等は此の反応につき各種アルコールを用いて実験せる結果，メタノールより析出する石鹼が最も吸引濾過し易いことを認めたので，以上の操作をソーダ塩メタノール法と称することとした。

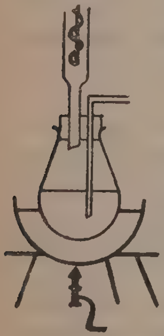


Fig. 1

i） 分離し得る脂肪酸について

ソーダ塩メタノール法に依つて分離し得る脂肪酸の性状を知るために次の如き実験を行つた。

即ち，第1図の如き装置を用い，油脂 100 g に対し市販純メタノール 350 cc 及び苛性ソーダ 25 g（同量の水に溶解）を加え 30 分間加温鹼化す。鹼化終了せば温時炭酸ガスを 8～10 分通ずる。炭酸ガスの吹込みと同時に次第に析出物を生じ始め，5～6 分後には殆んど全体がペースト状を呈する。析出物の増量を認めなくなれば更に 2～3 分吹込みを続け析出を完全ならしめ，後密栓し室温に放冷する。冷後吸引濾別し，濾紙上の沈澱（石鹼-I）を 50 cc のメタノールで2回洗滌する。（ソーダ塩メタノール法）。

濾液及び洗液を併せメタノールを溜去し，発泡甚しく蒸溜不可能になれば止め，300 cc のアセトンを加え加温溶解し放冷す。冷後析出せる沈澱（石鹼-II）を吸引濾別す。

石鹼-I，石鹼-II，及びアセトン濾液より得られる石鹼-III を酸分解して，夫々脂肪酸-I，脂肪酸-II 及び脂肪酸-III を得る。

鱈油，イカ肝油及び油鮫肝油についてこの方法を実施した結果を第1表に示す。

即ち，第1表より明かな如くソーダ塩メタノール法によれば飽和及び低度不飽和脂肪酸のみを除くことができる。従つて本法に依つて沈澱分離し得る脂肪酸と外山のソーダ塩アセトン法により沈澱分離し得る脂肪酸とはその性状に可成り相違がある。即ち外山の方法に依れば第1表における脂肪酸-I 及び -II が同時に除去され，脂肪酸-III（高度不飽和酸）のみが濾液中に残る。然るに本法では脂肪酸-I（飽和及び低度不飽

* 特許公告中

Table 1. 石鹸-Ⅰ，Ⅱ及びⅢより得られた脂肪酸の収量及び沃素価

Yield and iodine value of fatty acids obtained from soaps-Ⅰ，Ⅱ and Ⅲ.

	鰮油 Sardine oil		イカ肝油 Squid liver oil		油鮫肝油 Dog fish liver oil.		備考 Remarks
	収量 Yield(%)	沃素価 I.V.	収量 Yield(%)	沃素価 I.V.	収量 Yield(%)	沃素価 I.V.	
原油 Original oil	100	138	100	165.1	100	105.2	
脂肪酸-Ⅰ Fatty acids-Ⅰ	62.9	91	42.9	77.3	31.2	53.3	メタノールより析出 Precipitated from methanol
脂肪酸-Ⅱ Fatty acids-Ⅱ	10.3	236	20.8	122.3	46.7	116.2	アセトンより析出 Precipitated from acctone
脂肪酸-Ⅲ Fatty-acids-Ⅲ	16.9	313	31.8	313.8	——	——	アセトン可溶 Soluble in acetone

酸）のみが沈澱し，脂肪酸-Ⅱ及びⅢは除去されない。

ii）ビタミン A 及びその他の不鹸化物の抽出について

ソーダ塩メタノール法を行つた際に，ビタミン A 或はその他の不鹸化物が充分メタノール中に抽出されているか否かを検するために次の如き実験を行つた。

即ち，ビタミン油 10 g をとりメタノール及び苛性ソーダーを以て鹸化，炭酸ガスを吹込み室温に放冷する。冷後析出せる沈澱を吸引濾別し，濾紙上の沈澱は夫々 20 cc, 15 cc, 10 cc のメタノールを以て 3 回洗滌す。濾液及び洗液を併せ，水を加えたる後精製せるエーテルを以てビタミン A 及びその他の不鹸化物を繰返し抽出する。得られたエーテル抽出液は僅に溶解せる石鹸を洗滌除去したる後，水洗，乾燥後エーテルを溜去する。こゝに得られた抽出物と原料油を鹸化し直接エーテルを以て抽出定量せる際の不鹸化物とを比較した。

スケソウ肝油（I.V. 136.2, 48,000 u.s.p.u.）及び鮪肝油（83,600 u.s.p.）についての結果を第 2 表に示す*。

Table 2. 不鹸化物抽出に於ける「ソーダ塩-メタノール法」処理の効果

Effect of "sodium salt-methanol method" upon the extraction of unsaponifiable matter

種類 Kind	鹸化後処理 Treatment after saponification	不鹸化物収量 Yield of unsap.	ビタミンA単位 Vitamin A potency	ビタミンA回収率 Recovery of vitamin A
スケソウ肝油 Pollack liver oil	無処理 Not treated	9.40 %	500,600 u.s.p.u.	98.0 %
	ソーダ塩メタノール法処理 Treated with "sodium salt-methanol method"	9.17	514,500	98.3
鮪肝油 Tuna liver oil	無処理 Not treated	12.0	675,000	96.9
	ソーダ塩メタノール法処理 Treated with "sodium salt-methanol method"	9.26	863,900	95.7

即ち，ソーダ塩メタノール法に依つて沃素価低き脂肪酸の石鹸を分離してもビタミン A の損失は殆んど認められない。但しこの際濾別せる沈澱はメタノールを以て充分洗滌することが必要である。なお一旦析出

* 此の際濾別された沈澱（若干の炭酸塩を含む石鹸）を一週間室温で風乾後秤量した結果，スケソウ肝油では原油の重量に対し 33 %，鮪肝油では同じく 37 %であつた。

せる飽和及び低度不飽和脂肪酸の石鹼は冷時メタノールには可成り難溶で，相当量のメタノールを以て洗滌しても，メタノールに溶解して来る石鹼量は極めて少い。

第2表の鮪肝油の場合に，原肝油不鹼化物とソーダ塩メタノール法処理を行つた場合の不鹼化物との間に若干の相違が認められるのは，本操作に依つてメタノールに難溶な不鹼化物も一部石鹼と共に除かれる結果と思われる。

ソーダ塩メタノール法を行つた結果得られる濾液を冷蔵庫中で充分冷却するか，或はメタノールを蒸溜し濃縮したる後，放冷すれば再び石鹼の析出を認めるが，この場合の石鹼を吸引濾別すればビタミン A の損失を招くようである。

Ⅱ） カルシウム塩-アセトン法

ソーダ塩メタノール法に依つて飽和脂肪酸及び低度不飽和脂肪酸を分離することはできても，高橋法（B）の場合と同様に尙多くの脂肪酸が濾液中に残存する。従つてこれらの脂肪酸とビタミン A とを分離するためには更に何等かの方法が行われなければならない。即ち適当な溶剤を以てビタミン A を抽出する（液々抽出法）か，或は尙残存する脂肪酸を沈澱除去してビタミン A を抽出する（沈澱法）か，いづれかである。溶剤を以て抽出を行う液々抽出法に関しては次報に報告することとし，本報では前報に続き沈澱法について検討した。

著者等は前報で脂肪酸を沈澱除去してビタミン A を抽出する方法については i）抽出物中に混入する脂肪酸を防ぐことと ii）ビタミン A の抽出率を向上せしめることとに問題があることを指摘した。この為には脂肪酸の金属石鹼を殆んど溶解せず，且ビタミン A を充分抽出し得るが如き溶剤を選択することが必要である。この点に関し著者等は各種溶剤について検討を進めた結果，アセトンが比較的良くこの目的に適していることを認めたので，次の如き処理を行いビタミン A を抽出した。

実施例

スケソウ肝油（I.V. 136.2 ビタミン A 含量 48,000 u.s.p.u.）28 g をとり純メタノール 98 cc 及び苛性ソーダ 6.5 g（同量の水に溶解）を加え鹼化，鹼化後炭酸ガスを吹込み密栓し，室温に放冷する。冷後析出せる沈澱を吸引濾別し，濾紙上の沈澱はメタノール 40 cc，30 cc，20 cc を以て3回洗滌す。（ソーダ塩メタノール法）

Table 3. カルシウム塩-アセトン法に依る抽出
Extraction with "calcium salt-acetone method"

	重量 Wt.	液量 Volume of solution	ビタミンA単位 Vitamin A potency per 1 g of oil	ビタミンA単位 Vitamin A potency per 1 cc of sol.	総ビタミンA Total vitamin A	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A	沈澱重量** Wt. of precipitate
	g.	cc.	u.s.p.u.		×10[4]	%	g.
原油 Original oil	28	—	48,000	—	134.4	—	—
ソーダ塩-メタノール法処理後（メタノール溶液） After treatment with sodium salt-methanol (methanol sol.)	—	201		6,825*	137.2	102	11.5
ソーダ塩-アセトン法処理後（アセトン溶液） After treatment with sodium salt-acetone (acetone sol.)	—	200		6,620*	132.4	98.5	14
カルシウム塩-アセトン法処理後（抽出物） After treatment with calcium salt-acetone (extract)	3.56	—	350,200	—	124.7	92.9	—

* 溶液 1 cc をとりイソプロパノールで稀釈して測定した
Estimated in isopropanol containing 1 cc. of the solution.

** 濾別せる沈澱を1週間室温で風乾後秤量した
Weighed after one week's drying in room temperature.

濾液及び洗液を併せメタノールを蒸溜する。メタノール溜去後アセトン 120 cc を加え 20 分加温したる後冷却。冷後析出する沈澱を吸引濾別し，沈澱はアセトン 40 cc，30 cc，20 cc，を以て三回洗滌す。（ソーダ塩-アセトン法）

濾液及び洗液を併せこれに 20％塩化カルシウムメタノール溶液 13 cc を加え 10 分間加温したる後冷却す。上澄液を分離したる後，沈澱は更に 30 cc のアセトンを以て加温抽出する。得られた抽出液を併せ冷蔵庫に一夜放置してカルシウム石鹸の析出を完全ならしめたる後，濾別しアセトンを溜去する。蒸溜残液に石油エーテルを加え醋酸酸性としたる後水洗し，石油エーテルを溜去し抽出物を得る。（カルシウム塩-アセトン法）

抽出操作の各過程に於けるビタミン A の歩留及び分離された沈澱物の収量を第3表に示す。

なおエーテル抽出により定量せる不鹸化物は第2表に示した。

本肝油について高橋法（C）に依る抽出物* と本法に依る抽出物との比較を第4表に示した。

Table 4. 高橋法 C とカルシウム塩-アセトン法の比較
Comparison of TAKAHASHI's method C with Calcium salt-acetone method.

	抽出物収量 Yield of extract	抽出物のビタミンA単位 Vitamin A potency of extract	ビタミンA抽出率 Recovery of vitamin A
	%	u.s.p.u.	%
高橋法 C TAKAHASHI's method C	20.06	227,500	95.1
カルシウム塩-アセトン法 Calcium salt-acetone method	12.7	350,200	92.9

即ち本法に依れば抽出物重量（12.7％）はエーテル抽出（9.4％）に比しては僅かに多いが，高橋法（C）（20％）より遙かに少なく，脂肪酸の混入はかなり防ぐことができる。又ビタミン A の抽出率（92.9％）はエーテル抽出（98％）及び高橋法（C）（95.1％）に僅かに劣る。

実施例に示す如く「カルシウム塩アセトン法」を行うに当つては予め「ソーダ塩メタノール法」を行うことが必要である。即ち前報に検討せる高橋法（B）において得られるアセトンの濾液** に塩化カルシウム-アルコール溶液を加えてもカルシウム石鹸の沈澱を得難いのみならず，多量の水酸化カルシウムの生成は濾過を極めて困難なものとする。しかるに本法の如く最初にソーダ塩メタノール法により処理せる場合は過剰のアルカリが殆んど除かれているために，塩化カルシウムを添加しても水酸化カルシウムは生成されず，濾過が容易であり且アセトン溶液中のメタノール含量が少いためにカルシウム石鹸の析出が完全ではないにしても充分行われる。然しながら本法が高橋法（B）及び（C）に比して幾分優れているとしても，尚，次の如き欠点を有しているのでビタミン A の経済的抽出法とは考えられない。

i） エーテル抽出に比して，ビタミン A の抽出率が劣り，且，僅かではあるとしても脂肪酸の混入を防ぎ得ない。即ち本法も又著者等が前報に於て指摘した沈澱法の欠点を免かれてはいない。

ii） 加温，冷却，蒸溜が繰返えされることは非常に操作を繁雑なものとしている。

摘　　要

I） メタノール及び苛性ソーダを以て油脂を鹸化したる後，炭酸ガスを吹込み放冷し析出せる石鹸を吸引

* 原油に対し7倍量のエチルアルコールを用い，析出せるカルシウム石鹸は更に3倍量のアルコールを以て加温抽出した。尚詳細は前報実施例③を参照されたい。

** ソーダ塩メタノール法を行わず，直接ソーダ塩アセトン法を行つて得られる濾液。尚，詳細は前報実施例①を参照されたい。

濾別すれば飽和脂肪酸及び低度不飽和脂肪酸を容易に分離する事ができる。(ソーダ塩メタノール法)

なお此の際ビタミンAは完全にメタノール溶液中に抽出され得る。

II) ソーダ塩メタノール法を行つた後，尚，残存する脂肪酸をアセトン溶液中においてカルシウム石鹸として沈澱せしめビタミンAを抽出した。(カルシウム塩アセトン法)

本法による抽出物は高橋法 (C) に依つて得られる抽出物に比して混入する脂肪酸は遙に少いが，ビタミンAの抽出率はエーテル抽出に比して劣り経済的抽出法とは認め難い。

なお本研究に当り終始御鞭撻を与えられた東秀雄博士並びに実験に協力された神林，天野両氏に謹んで深謝の意を表する。

文　　献

1) 新間彌一郎，衣巻豊輔；日水誌 20 337 (1954).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究―IV.
尿素によるビタミンAの濃縮

東　秀雄・山川健重・衣巻豊輔
（東海区水産研究所）

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—IV.
Application of Urea Complex in the Concentration of Vitamin A

Hideo HIGASHI, Takeshige YAMAKAWA and Toyosuke KINUMAKI

The authors have found that part of impurities contained in vitamin A concentrate forms methanol insoluble urea complexes. So, from the vitamin A concentrate prepared in such a way as in the previous studies, still more concentrated one may be obtained by removing the urea complexes.

The following method was taken in the experiments.

Different amounts of urea were added to vitamin A concentrate diluted with various volumes of methanol, and the mixture was boiled until the urea was completely dissolved. After cooling at room temperature, separated urea complexes were filtered and the filtrate was extracted with ether (or benzene). Vitamin A was concentrated in the ether extracts. Vitamin A contained in the crude urea complexes was recovered by washing with a solvent.

Results of the experiments were as follows:

1) The rate of concentration of vitamin A was 1.2—3.6, varying according to the kind of original fish liver oil (Tables 3, 4, 5 and 6). If separation of urea complexes was performed after cooling in the refrigerator at ca. −15°C., vitamin A would be obtained in a little higher concentration (Tables 1 and 2).

2) The most suitable solvent to wash the crude urea complexes was methanol saturated with urea (Table 6).

3) The substances forming urea complexes would be probably the mixtures of saturated and unsaturated fatty alcohols having approximately the same molecular weight as vitamin A (Table 7).

緒　言

鹸化法で得た不鹸化物[1)2)]をメタノール等を溶剤として脱ステロールした不鹸化物（以下単に濃縮不鹸化物と記す）でも尚ビタミンA以外の不鹸化物を相当多量に含んでいる。その A 以外の不鹸化物の質並に量は原料の種類により一様ではないが，これ等の不純物を経済的に除くことが A の単位の向上に必要である。

従来，脂肪酸エステル，アルコール等の分離に尿素を用いた報告[3)4)5)6)]は幾つか見られるが，ビタミンA

受理月日　昭和 29 年 10 月 16 日　東海区水産研究所業積 B 第 175 号（印刷費負担）

の濃縮の為に用いた報告は少い。阿部[7]は肝油のエチルエステルに尿素を作用せしめ，ビタミン A の濃縮を試みた成績を発表しているが，この場合は脂肪酸に添加する尿素が相当多量に必要である。

著者等は，尿素使用による A の濃縮は脂肪酸を含まぬ相当高単位の濃縮不鹼化物に就いて，実施しなければ，到底経済的には行い得ないと考え，濃縮不鹼化物に就いて尿素によるビタミン A の濃縮を研究することにした。

濃縮不鹼化物に尿素を加えた場合，A 以外の不鹼化物と尿素とが不溶性の附加物を作り，これを A と分離することができれば濃縮不鹼化物のビタミン A は更に濃縮されるわけである。

本研究を行うに先立ち，予備的に濃縮不鹼化物中の A 以外の不鹼化物として考えられるオレインアルコール，バチルアルコール，コレステロール，スクアレン等の尿素附加物の生成に就いて実験した。其の結果オレインアルコール，コレステロールは適当な条件下に於てメタノール不溶の沈澱を生じ，バチルアルコール，スクアレンでは殆んど沈澱を生じなかつたので，濃縮不鹼化物の種類によつては，尿素による A の濃縮が可能と思われた。依つて尿素処理を行い，A の濃縮程度を検討して見た。その結果，スケソウ，大ブカの濃縮不鹼化物以外は尿素により相当効果的に A が濃縮されることを知つた。

実験の部

I. 試料

右記各肝油から先に報告した如き方法で不鹼化物を抽出し，これを更にメタノール或はアセトン等で脱ステロールし，これ等を試料として用いた。

試料番号	濃縮不鹼化物の原料肝油	ビタミンA単位 (u.s.p.u.)
1	油鮫	523,000
2	〃	98,200
3	〃	63,000
4	大ブカ(主としてシュモク鮫とヒラガシラの混合)	1,597,000
5	スケソウ	1,240,000
6	鯨	1,710,000
7	〃	357,000

II. 実験方法

尿素附加条件を検討するには種々の溶剤に濃縮不鹼化物を溶かし，その溶剤量及び尿素量を変える試みをしなければならないが，本報に於ては溶剤としてメタノールを用い，その量及び尿素量を変える実験を行つた。上述の試料を種々の量のメタノールに溶解した後，これに種々の量の尿素を加え湯浴上で逆流冷却器を附し加熱し，添加尿素が全く溶解した時に加熱を止め放冷する。冷後析出した沈澱を濾過し，濾液よりエーテル抽出を行う。此のエーテル抽出物のビタミン A 単位を測定した。

尙，析出沈澱を濾別し，沈澱に包含されるビタミン A を可及的に回収する為の洗滌条件を検討した。又沈澱を温湯で分解した後，エーテル* 抽出を行い，得られたものの沃素価，アセチル価等二，三の性質を確めた。

III. 実験結果

(1) 尿素及びメタノールの使用量

先ず試料2及び3を 3～5 倍量のメタノールに溶かし，3倍量の尿素を加え加熱し，放冷し，析出した沈澱を濾別した濾液を一夜冷蔵庫中で冷却，再び析出した沈澱を濾別した濾液のビタミン A が最も濃縮され，3.1～4.4 倍の単位を示した（第 1，2 表）。

試料2を5倍量のメタノールに溶かし，3倍量の尿素を加えた時，室温で析出した沈澱を濾別した濾液を処理した場合と更に此の濾液を冷却し析出した沈澱を濾別した濾液を処理した場合とでは，前者が 2.8 倍の A 濃縮率を示すに過ぎないが，後者では 4.4 倍となつた。冷蔵庫内で冷却放置する方が常に濃縮倍率が高

* 工業的操作を行う際にはベンゾールを使用する方が経済的である。

いが，爾後の実験は室温に迄放冷して濃縮する方法についての吟味を行つた。

肝油の種類により尿素附加の際，使用するメタノール及び尿素量は当然異る。以下，スケソウ，大ブカ，油鮫及び鯨に就いてビタミンA濃縮率を比較検討した。

Table 1. 油鮫肝油濃縮不鹸化物（98,2000 u.s.p.u.）
Vitamin A concentrate from dog fish liver oil.

尿素量 Amount of urea \ メタノール量 Volume of methanol	×2	×3	×5	×8	×12
×1	1.5				
×3		*3.13	4.36		
×5				2.98	
×7					2.36

表中の数字はA濃縮倍率
* は尿素が加熱しても完全に溶解せぬことを示す。
第 2～5 表についても同様
Volume of methanol : cc. per 1 gr. of original concentrate.
Amount of urea : gr. per 1 gr. of original concentrate.
Figures in the table : rate of concentration of vitamin A.
* indicates that urea is not completely disolved at boiling.
These explanation are applied to table 2—5.

Table 2. 油鮫肝油濃縮不鹸化物（6,300 u.s.p.u.）
Vitamin A concentrate from dog fish liver oil.

尿素量 Amount of urea \ メタノール量 Volume of methanol	×3	×5	×8	×12
×1	1.54	1.51		
×3	*4.01	3.80	3.05	
×5		*3.63	3.12	3.52
×7			*3.59	2.85

Table 3. 油鮫肝油濃縮不鹸化物（523,000 u.s.p.u.）
Vitamin A concentrate from dog fish liver oil.

尿素量 Amount of urea \ メタノール量 Volume of methanol	×5	×8	×12	×17	×23
×1	1.55	1.16	1.08		
×3		1.96	1.92	1.76	
×5			2.37	2.35	1.93
×7				2.37	2.19

（i） **スケソウ**

試料 5 を用いたが，メタノール及び尿素量を種々変えて見てもビタミンA濃縮率はせいぜい 1.2 倍で高い濃縮率は得られない結果を示すので，尿素を更に大量に使用して再試したが，同様な結果しか得られなかつた。従つてメタノール不溶性尿素附加物が少いことは確実らしい。

（ii） **大ブカ**

試料 4 に就てはスケソウと略々同様の結果で良い結果と云えないが，他の試料に就て 1.5 倍に濃縮された例もあるので尚検討中である。

（iii） **油鮫**

試料 1 は 12～17 倍量のメタノール，5～7 倍量の尿素でビタミン A は 2.4 倍に濃縮される（第 3 表）。又，試料 3 は 6.8 倍量のメタノール，4.1 倍量の尿素で濃縮率は 3.6 倍であつた（第 6 表 (3)）。

（iv） **鯨**

試料 6 及び 7 に就てはメタノール量及び尿素量の検討を行わなかつたが 6～20 倍量のメタノール，約 10 倍量の尿素では供試濃縮不鹸化物が相当高単位に拘らず 1.3～1.7 倍に濃縮され，油鮫に次いで好結果を得た。（第 6 表 (1)，(2)）。

（2） 不溶性尿素附加物の洗滌試験

上述の如くして分離したメタノール不溶性の尿素附加物は少量のビタミンAを含んでいる。ビタミンA濃縮物を経済的に製造する為には之をできるだけ回収しなければならぬ。そこで試料 3，6 及び 7 に適当な条件で尿素附加を行い，生じた尿素附加物を各種溶剤で洗滌し，附加部，非附加部等の重量，ビタミンA単位，ビタミンA 収量等を測定した。其の結果，第 6 表に示す如く附加物を尿素飽和メタノールで洗滌することが最適なることを認めた。

（3） 尿素附加物の性質

尿素附加物が如何なる物質かを知るため，二，三の化学的性質を調べた。即ち試料6及び7より得た尿素附加物のアセチル価，沃素価，平均分子量は第7表の如くである。附加物は淡黄色，無定形の固体で，分子量がビタミンA程度の飽和及び不飽和アルコールの混合したものではないかと思われる。

又，不溶性附加物を濾別した濾液を一夜冷蔵庫中に冷却し析出した沈澱を分解して得た少量の附加物は，先に得られた不溶性附加物より融点の低い物質であつた。

Table 4. スケソウ肝油濃縮不鹸化物 (1,240,000 u.s.p.u.)
Vitamin A concentrate from pollack liver oil.

尿素量 Amount of urea \ メタノール量 Volume of methanol	×5	×8	×12	×17	×23
×1	0.47	1.04	0.97		
×3		1.05	1.04	0.93	
×5				0.75	1.22
×7				0.79	1.11

Table 5. 大ブカ肝油濃縮不鹸化物 (1,597,000 u.s.p.u.)
Vitamin A concetrate from shark liver oil.

尿素量 Amount of urea \ メタノール量 Volume of methanol	×5	×8	×12	×17	×23
×1	1.02	0.91	1.09		
×3		0.99	1.23	1.11	
×5			1.19	1.00	1.09
×7				1.23	1.24

Table 6. 尿素附加物の洗滌
Effect of washing urea complexes.

(1) メタノールで洗滌した場合
Washing with methanol

	Sample	単位 Vitamin A potency u.s.p.u./gr.	重量 Weight gr.	ビタミンA収量 Percent recovery of vitamin A
	鯨肝油濃縮不鹸化物 Original vitamin A concentrate from whale liver oil	1,710,000	3.42	(100)
洗滌しない場合 Not washed	非附加部 Urea non-adducted fraction	2,300,000	1.78	60
洗滌した場合 Washed	非附加部 Uera non-adducted fraction	2,180,000	1.73	66
	洗滌部 Fraction from MeOH used for washing	2,010,000	0.66	23.5
	附加部 Fraction from urea complexes	1,300	1.03	0
	計 Total		3.42	89.5

尿素量 ×10
Amount of urea: 10 gr./1 gr of original concentrate
メタノール量 ×20
Volume of methanol: 20 cc./1 gr. of original concentrate

(2) メタノール及びエーテルで洗滌した場合
Washing with methanol and ether

	単位 Vitamin A potency u.s.p.u./gr.	重量 Weight gr.	ビタミンA収量 Per cent recovery of vitamin A
鯨肝油濃縮不鹸化物 Original vitamin A concentrate from whale liver oil	357,000	6.09	(100)
非附加部 Urea non-adducted fraction	621,000	3.06	88.6
メタノール洗滌部 Fraction recovered from wash methanol	538,000	0.62	15.5
エーテル洗滌部 Fraction recovered from urea complexes	3,600	0.64	0.1
附加部 Fraction recovered from urea complexes	0	1.78	0
計 Total		6.10	104.2

(3) 各種溶剤で洗滌した場合
Washing with various solvents

尿素量 ×10
Amount of urea: 10 gr./1 gr. of original concentrate
メタノール量 ×6
Volume of methanol: 6 cc./1 gr. of original concentrate

洗滌溶剤 Wash solvent	濃縮率 Rate of concentration	ビタミンA収量 (%) Recovery of vitamin A
(洗滌せず) Not used	3.62	72.7
メタノール Methanole	2.72	95.9
尿素飽和メタノール Methanol suturated with urea	3.35	101
アセトン Acetone	2.96	89
石油エーテル Petroleum ether	3.01	97

試料番号 3
Sample: Vitamin A concentrate from dog fish liver oil (6,300 u.s.p.u.)
尿素量 × 4.1
Amount of urea: 4.1 gr./1 gr. of original concentrate
メタノール量 ×6.8
Volume of methanol: 6.8 cc/1 gr. of original concentrate

Table 7. 尿素附加物の性状
Properties of the substances forming urea complexes

	A	B
アセチル価 Acetyl value	208	——
沃素価 Iodine value	50.4	53.7
平均分子量（ラスト氏法） Average molecular weight (By RAST's method)	287	249

A: 第6表 (2) の尿素附加部
Substances recovered from urea complexes as in Table 6—(2).
B: 第6表 (1) の尿素附加部
Substances recovered from urea complexes as in Table 6—(1).

摘　　要

諸種の肝油の濃縮不鹼化物に尿素を附加させ，メタノール不溶性尿素附加物の除去によりビタミン A の濃縮を試みた。即ち油鮫及鯨肝油の濃縮不鹼化物を適当量のメタノールに溶解し，4～7 倍量の尿素を加え加熱すれば濃縮不鹼化物中の或る物は尿素とメタノール不溶性附加物を作り，これを濾別し，沈澱を尿素飽和メタノールで洗滌し，濾液及び洗液からビタミン A を油脂溶剤で抽出する。この操作で得られた A 濃縮物は最初の濃縮不鹼化物より A 濃度が 1.3～3.6 倍濃厚で而も A の損失が殆どない。

此の方法は最適条件下に施行すれば，濃縮不鹼化物より更に A を濃縮する一つの行程として工業的にも実施し得る。

尚本研究の一部は文部省科学研究費の補助により実施された。

文　　献

1) 新間彌一郎，衣巻豊輔：日水誌，**20**，337，551 (1954).

2) 東　秀雄，山川健重，新間彌一郎，衣巻豊輔：第 29 回脂溶性ビタミン綜合研究委員会講演 (1954).

3) W. J. Zimmerschied, R. A. Dinerstein, A. W. Weitkamp and R. F. Marscher: *J. Am. Chem. Soc.* **71**, 2947 (1949), *Ind. Eng. Chem.* **42**, 1300 (1950).

4) D. Swern, W. E. Parker: *J. Am. Oil Chem. Soc.* **29**, 431—4, 614—5 (1952)；**30**, 5—7 (1953).

5) 益山新六：農化，**26**，524，622 (1953).

6) 阿部芳郎，渡辺昭一郎：油化協誌，**3**，164—6 (1954).

7) 阿部芳郎，井原豊子：日本油脂化学協会秋期講演大会発表 (1953).

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—V. 鹸化法によるビタミンAの濃縮(その3)液々抽出法

新間彌一郎・菊池嶺
(東海区水産研究所)

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—V. Concentration of Vitamin A by Saponification 3. Liquid-Liquid Extraction (part a).

Yaichiro SHIMMA and Ryo KIKUCHI

As it was found in the previous studies that the precipitating method was not suitable for the economical manufacture of vitamin A concentrate comparable with synthetic one, we made an attempt to obtain vitamin A concentrate by liquid-liquid extraction.

In the present study, benzene is adopted as a solvent to extract vitamin A for economical consideration. When benzene is used for solvent, main difficulty in the extraction consists in formation of emulsion produced with benzene and soap solution. However, by removing excess alkali present in soap solution, we can prevent the emulsification and easily extract vitamin A from concentrated soap solution (Table 1). The following method A or B is taken for removing excess alkali.

Method A …… CO_2 gas is blown into the soap solution after saponification, and precipitated soap is filtered (sodium salt-methanol method described in the previous paper). Benzene extraction is performed on the resultant solution.

Method B …… In order to make the soap not precipitated, benzene is added to the saponified solution treated as well by CO_2 gas. Produced precipitate mainly consisting of Na_2CO_3 is filtered and benzene extraction is performed on the resultant solution.

It should be noted that when liver oils containing large amounts of glyceryl ether such as bathyl or selachyl alcohol are used for the starting oil, soap is transferred into benzene layer with glyceryl ether and such soap cannot be removed by our method (Table 2). Manufacture of vitamin A concentrate from such liver oils needs further investigations.

緒言

ビタミン油からビタミンA濃縮物を得る方法に就いては既に多くの研究が為されているが，これ等の主な研究を大別すれば次の如く分類する事が出来る。

1954年11月15日受理 東海区水産研究所業績B第179号(印刷費負担)

I 非鹼化法（油脂の主成分であるグリセライドを鹼化せずにビタミンAを濃縮する方法）

i） 分子蒸溜法（分子蒸溜により濃縮する方法）

ii） 溶剤抽出法[1]（例えばフルフラールの如き溶剤を以てビタミン油から直接A濃縮物を抽出する方法）

iii）吸着法[2]（吸着によりビタミンAをグリセライドと分離する方法）

II 鹼化法（油脂を鹼化せる後ビタミンAを抽出する方法）

i） 沈澱法（鹼化に依つて生じた石鹼を沈澱除去する方法）

ii） 液々抽出法（石鹼溶液より有機溶剤によりビタミンAを抽出する方法）

iii） 半鹼化法[3]（油脂の 50～75% を鹼化しビタミンA濃縮物を得る方法）

著者等は合成ビタミンAに対抗する為にビタミンA濃縮物を天然ビタミン油より経済的に得んとする目的から以上の諸法に就いて逐次検討を進め，分子蒸溜法及び沈澱法だけでは不充分で更に他の濃縮法について検討を要することを既に明らかにした[4)5)6)]。本報に於ては液々抽出法に就いて検討した結果を報告する。

実　験　の　部

液々抽出法によりビタミンAを経済的に濃縮せんとする場合には抽出用溶剤の選択及びその抽出条件の吟味が極めて重要である。即ち従来不鹼化物の定量に用いられているエーテル或は石油エーテルによる不鹼化物の抽出法はビタミンAの抽出は殆んど完全に行われるが，溶剤の性状及び価格の点から工業的に応用し得る見込は少い。その他外国に於ては抽出用溶剤としてエチレンヂクロライド或はその他の塩化アルキルが報告されている[7]。又液体 SO_2 を溶剤として使用した特許があり[8]，最近では工業的にイソプロピールエーテルが繁用されている様である。しかし乍ら我が国の現状に於てはかゝる溶剤をビタミンAの経済的濃縮に多量に用いる事は困難であると思われるので，著者等は抽出用溶剤としてベンゾールを選びその抽出条件について検討した。

油脂を酒精アルカリで鹼化して得られる石鹼液は抽出時に極めて乳化し易く，この為従来行われている抽出法では石鹼液中の石鹼濃度を非常に稀薄となし，原料油脂に対して著しく多量の石鹼液から多量の溶剤を用いて抽出が行われた。然るに経済的にビタミンAを抽出する為には成る可く濃厚な石鹼液から可及的に少量の溶剤を以て抽出し得る事が必要である。この為には濃厚な石鹼液と抽出溶剤との間に生ずる乳化現象を防がなければならない。著者等は石鹼液中の乳化性因子を除去する研究を進め鹼化液に炭酸ガスを吹込む事により生じる沈澱を除去すれば以後の抽出に於て石鹼液の乳化性は著減する事を知つた。即ち抽出法は次の如くである。

I A 法（ソーダ塩メタノール法[6]の応用）

著者等が前報に於て報告せるソーダ塩メタノール法処理を行つて得られる濾液に就いてベンゾール抽出を行つた。即ち

肝油 100 g にメタノール 350cc 及び苛性ソーダ 20g（同量の水に溶解）を加え鹼化したる後炭酸ガスを吹込み一夜放置す。析出せる沈澱を吸引濾別す。沈澱は充分洗滌し洗液及び濾液を併せ 800cc を得る（ソーダ塩メタノール法）。この石鹼メタノール溶液に水 480cc* を加え，ベンゾール（900cc, 700cc, 400cc, 400cc, 200cc, 200cc*）を以て6回抽出す。ベンゾール抽出液を併せ 10% 尿素水溶液 250cc を加え振盪しベンゾール層に溶解せる石鹼を除去する。下層を分離したる後ベンゾールを蒸溜除去すれば不鹼化物を得る。

II B 法（炭酸ガス吹込みの応用）

A法に於ては飽和及び低度不飽和脂肪酸の石鹼を沈澱濾別しているが，これらは其の後の研究の結果必ずしも乳化現象を起す原因ではなく，次の如き方法に依つても抽出は可能である事を知つた。即ち

---

* 原料ビタミン油の種類に依り多少の増減が必要となる事がある。

肝油 100g に 90% メタノール 440cc 及び 苛性ソーダ 20g (同量の水に溶解) を加え鹼化したる後炭酸ガスを吹込む。炭酸ガスの吹込みが終れば温時ベンゾール 400cc を加え冷却す。冷却沈澱を吸引濾引する。既にベンゾールが加えてある為に，その際石鹼は析出せず吸引濾別は極めて容易であり，沈澱は 70cc のベンゾールを以て2回洗滌すれば良い。

濾液及び洗液を併せ水 240cc* を加え，ベンゾール (160cc, 300cc, 300cc, 300cc, 250cc, 250cc*)を以て6回抽出す。毎回抽出ベンゾール層と石鹼液層とは 2～3 分で容易に2層に分離する。ベンゾール抽出液を併せA法と同様に 10% 尿素水溶液を以て一回振盪後ベンゾールを溜去する。

抽出結果

各種のビタミン油に就きA法或はB法を以て抽出を行つた結果を第1表に示す。尚対照としてエーテル抽出を行つた結果を並記した。

Table 1. A 及び B 法とエーテル抽出との比較

Comparison of method A or B with usual ether extraction

原油 Original oil (ビタミンA単位) (Vitamin A potency u.s.p.u./g)	抽出法 Method of extraction	抽出物 Extract 単位 Vitamin A potency	抽出物 Extract 重量 Weight	ビタミンA抽出率 Vitamin A recovery
油鮫肝油 Dog fish liver oil		u.s.p.u./g	%	%
(9,680)	Ether extr.	68,700	13.7	97.2
	Method A	97,600	9.37	94.6
(38,600)	Ether extr.	238,000	15.9	98
	Method B	310,900	11.81	95
鮪肝油 Tuna liver oil				
(80,700)	Method B	430,000	18.25	97.2
(83,600)	Ether extr.	575,000	14.2	97.8
	Method A	1024,000	9.8	95.6
荒神目抜 Rock fish liver oil				
(68,000)	Ether extr.	891,000	7.58	99.4
	Mothod B	945,000	7.2	100
スケソウ肝油 Pollack liver oil				
(48,000)	Ether extr.	500,000	9.4	98
	Method B	510,000	9.18	97.5
鯨肝油(分子蒸溜油) Molecular distillate from whale liver oil				
(1099,000)	Methed B	2040,000	52.7	98.5
(460,000)	Method B	1240,000	37	98
(242,000)	Method B	1260,000	19	99

第1表より明かな如く通常のビタミン油に於てはA法或はB法の何れでも充分ビタミンAを抽出する事が出来るが，肝油の種類に依つてはベンゾール抽出が不適当と思われるものがある。即ち不鹼化物全量の多い油鮫肝油**についてベンゾール抽出を行つた***場合，抽出物中に多量の石鹼が混入して来る事を認めた。この肝油はバチル，及びセラキールアルコール等のグリセリールエーテルを多量に含む事が判つたので，次にかゝるグリセリールエーテルを不鹼化物の主成分とする九星銀鮫肝油に就いて抽出を行つた結果，同様に多

* 前頁脚註参照.

** 三陸近海で漁獲された油鮫♀，体長 160～205cm，体重 7kg～9kg

*** グリセリールエーテルが多量に存在する場合には抽出ベンゾール溶液に尿素水溶液を加え振盪すれば完全に乳化し強固なエマルジョンを形成する。そこで微アルカリ性の 60% メタノールを以て3回洗滌するに止めた。

量の石鹸が抽出物中に混入する事を認めた。此の様な肝油に就いての満足すべき不鹸化物の抽出法は目下研究中である。

Table 2. A 及び B 法とエーテル抽出との比較

（グリセリールエーテルを含む肝油の場合）

Comparison of method A or B with usual ether extraction, when liver oil containing glyceryl ether is used.

原　油 Original oil	抽出法 Method of extraction	抽出物 Extract 単位 Vitamin A potency	抽出物 Extract 重量 Weight	ビタミンA抽出率 Vitamin A recovery	酸価* Acid value
油鮫肝油 Dog fish liver oil (50,500)		u.s.p.u./g	%	%	
	Ether extr.	242,000	20.1	96.5	—
	Method A	233,000	21	96.8	29
	Method B	173,000	27.3	93.5	75
九星銀鮫肝油 Chimaera liver oil	Ether extr.	—	35	—	—
	Method B	—	45	—	80

* 抽出物を酸性となし，石鹸を分解せる後測定

Measured after soap is decomposed to fatty acids by acidifying the extract.

考　　察

本法に報告せるA法及びB法と一般に行われているエーテル抽出法とを比較すれば次表の如く著しい相違が認められる。

Table 3. A 及び B 法とエーテル抽出との比較

Comparative Volumes of Soap solution and solvent used in various methods.

	石鹸液中のアルコール濃度 Concentration of alcohol in soap solution	原油に対する石鹸液量（倍） Vol. of Soap Solution per 1 vol. of original oil	原油に対する抽出溶剤量（倍） Vol. of solvent per 1 vol. of original oil
	%		
Ether extraction	ca. 20	20 ～ 40	40 ～ 100
Method A	ca. 60	ca. 13	ca. 28
Method B	ca. 60	ca. 7	ca. 21

尚A法の場合に石鹸液量及びベンゾール使用量の多い事を嫌うならば，ソーダ塩メタノール法処理を行つた後に濾液及び洗液を併せメタノールを蒸溜溜去し，約半量（原油に対し約4倍量）程度に迄濃縮した後ベンゾール抽出を行えば此等の欠点を除き得る。

原料ビタミン油の種類によつてはビタミンAの抽出に若干難易の差を生じる事を認めた。この事は油脂中の脂肪酸の沃素価，不鹸化物含量及びその性質等がビタミンAの抽出に影響を与える為と考えられる。即ちB法の場合に原油に対し 18 倍量のベンゾールで充分ビタミンAを抽出し得る場合もあり，又 25 倍量用いても尚石鹸液中にビタミンAが僅かではあるが残る肝油もある。かゝる場合にはベンゾール層との分離を妨げざる程度に石鹸液のメタノール濃度を若干低下させて抽出する必要がある。

ベンゾール抽出を行う際に特に注意しなければならぬ事はベンゾールの存在に於て炭酸ガスを吹込めば石鹸は分解して脂肪酸を生じ抽出物の酸価は高くなる。又温かい石鹸溶液に就いてベンゾール抽出を行えばベンゾールに多量の石鹸が移行し，尿素水溶液で洗滌を行う際にビタミンAの損失が大となる。石鹸溶液のメ

タノール濃度は原料ビタミン油の性質によつて若干左右されるが大体 60% 程度を最適とし，それよりメタノール溶度が高くなる程ビタミンAの抽出は不充分となる。これらに就いての吟味は次に報告する。

A法及びB法によればビタミンAの抽出率は殆んどエーテル抽出法に劣らぬが，抽出物の収量は若干少く従つてビタミンの濃縮率は高くなるなる傾向がある。特に A 法に於てこの傾向は顕著である。(第1表) 又得られる抽出物はエーテル抽出物に比して若干赤色が濃い様である。これはベンゾールが良く色素を抽出する為と考えられる。

以上述べたA法及びB法はいづれも充分経済的にビタミンAを抽出し得る方法と考えられるが，その後の研究の結果鹼化後石鹼液中に残存する過剰のアルカリが石鹼液の乳化現象を著しく助長することを確めた。従つて如何なる方法に依つても適当条件に於て過剰のアルカリを除去すれば石鹼液の乳化性は甚だしく低下し濃厚石鹼液よりビタミンAを経済的に抽出する事が可能となる。著者等は本報に於ては炭酸ガスを吹込む事により過剰のアルカリを炭酸ソーダとして沈澱除去したが次報に於てはそれ以外の方法を応用せるベンゾール抽出について報告する*。

摘　　要

鹼化後液々油出法により石鹼液よりビタミンAを経済的に抽出する方法として炭酸ガスを用いる次の二法について実験した。

A 法　鹼化後石鹼液中に炭酸ガスを吹込み生ずる沈澱を濾別後濾液についてベンゾール抽出を行つた。

B 法　炭酸ガスを吹込みたる後ベンゾールを添加し生ずる沈澱を除きたる濾液について抽出を行つた。

A法及びB法に依れば使用有機溶剤としてメタノール及びベンゾールを用い，極めて濃厚なる石鹼液より経済的に液々抽出が可能となる事を明かにした。

本研究に当り終始御懇篤なる御指導を賜つた東秀雄博士並びに実験に協力された神林，天野両氏に謹んで深謝の意を表する。

文　　献

1) S.W. Gloyer : *Ind. and Eng. Chem.*, **40** (No. 2) 228 (1948)
   L.O. Buxton : *J.Am. Oil Chem. Soc.*, **24** 107 (1947)
   L.O. Buxton : U.S.P. 2,412,561 (1946)
   L.J. Van Orden : U.S.P. 2,394,968 (1946)
2) M.L. Karnousky , W.S. Rapson and N.J. van Rensburg : *J.Am. Oil chem. Soc.*, **25** 36 (1948)
   I.M. Gajjar and M. Sreenivasaya : *J. Sci. Ind. Res.* (India), **3** 301 (1945)
   笠間悌一，浜野貞行，上野庚次郎　特許　164,680 (1944)
3) 河合龜太郎：　特許　66,416, (1925), 71,746 (1927), 72,430 (1927)
   L.O. Buxton : U.S.P. 2,412,766 (1946)
   Dryden and Buxton : U.S.P. 2,404,365 (1946)
4) 東秀雄，新間彌一郎，衣巻豊輔：　日水会誌，**20** 328 (1954)
5) 新間彌一郎，衣巻豊輔：　日水会誌，**20** 337 (1954)
6) 同　上　：　日水会誌，**20** 551 (1954)
7) B.E. Bailey : "Marine Oils", *Bull. Fish Res. Bd. Can.*, **89** 58～60 (1952)
8) Mitchell : U.S.P. 2,324,012 (1943)

---

* 特許出願中

天然ビタミン油よりビタミンA濃縮物を経済的に製造する方法の研究—~~Ⅳ~~.Ⅵ

ビタミンA濃縮物のエステル化（其の1）酸クロリドによるアセチル化並にパルミチル化

衣 巻 豊 輔
（東海区水産研究所）

Studies on the Economical Manufacture of Vitamin A Concentrate from Fish Liver Oil—~~Ⅳ~~. Ⅵ

Esterification of Vitamin A Concentrate

1. Acetylation and Palmitylation with Acid Chloride

Toyosuke Kinumaki

Conditions of esterification of vitamin A concentrate with acid chloride were examined.

I. Acetylation

Method. Acetyl chloride in benzene was added slowly with stirring to vitamin A concentrate in benzene and pyridine under a stream of inert gas. After standing, water was added with vigorous stirring to dissolve pridine hydrochloride. The reaction mixture was then poured into a separating funnel and washed with 3% HCl, water, 2% KOH and finally with water. Acetate of vitamin A concentrate was obtained after evaporating benzene off.

Result. The rate of acetlylation was examined by means of refractive index. Acetylation was performed so rapidly that reaction time for 5 min. was enough to complete esterification. More than 1.8 mole of acetyl chloride per 1 OH of vitamin A concentrate and 1.5 mole of pyridine per 1 mole of acetyl chloride were needed for perfect esterification (table 1).

Vitamin A recovery in the process of acetylation was almost 100% except for cases such as vitamin A concentrate contaminated with fatty acid or impure acetyl chloride was used (tables 3, 4 and 5).

Change of vitamin A to anhydrovitamin A was not occurred in acetylation (table 2).

II. Palmitylation.

Method. Palmityl chloride in benzene was run into benzene dissolving vitamin A concentrate and pyridine. Water was added after stadding for some time. The reaction mixture transferred into a separating funnel was washed with 3% HCl, water, then with 30—50% methanol containing 2% KOH. Methanol used for washing was extracted several times with fresh benzene. Both the initial benzene and the extracts were combined and washed with 30% methanol and finally with water. Benzene was distilled. Acetone was added to the remainings and heated. After cooling for a night in a refrigerator, the acetone solution was filtered to remove the precipitate. Benzene was added into the remainings from which acetone had been distilled, and the benzene solution was washed with methanol containing KOH and then with water. After benzene had been driven off, palmitate of vitamin A concentrate was obtained.

The author assumed that the above precipitate was palmityl anhydride, because its m. p. was 62°C, molecular weight (observed) 475 and because it was very slowly hydrolyzed with alkali

1955年2月28日受理 （印刷費負担） 東海区水産研究所業績B第199号

solution.

Result. Reaction time for 10 min., 1.5 mole of palmityl chloride per 1 OH of vitamin A concentate and 1 mole of pyridine per 1 mole of palmityl chloride were enough to complete esterification (table 6).

Vitamin A recovery by palmitylating process was almost 100% (table 7). But if the washing with alkali before acetone treatment had been omitted, vitamin A recovery decreased to about 90% (tables 8 and 9). Therefore, washing with alkali before and after actone treatment may be needed for good recovery.

緒　　言

ビタミンA（以上単にAと記す）濃縮物或は合成Aを強化食品，医薬用等に使用する場合，従来は Palmitate 又は Acetate としている。A-alcohol を使用せず，これらのエステルを使用する根拠は A-alcohol に比し，A-ester の方が従来の試験成績によれば安定である点にあるらしい。併し防酸化剤に関する研究が進み，A-alcohol でも安定化し得るに到つたので，エステルとして使用する根拠は殆どなくなつたが，Aを濃縮し，精製する工程に於てエステルとした方が有利な場合もあるし，市販されるA剤がエステルである為一般にAのエステル化が行われている。

A濃縮物或は純Aの Aliphatic ester の製造は，1931 年に KARRER[1]がA濃縮物の Acetate を得て以来，MEAD[2], BAXTER[3] 等及び川上等[4] などにより行われているが，彼等は単にAのエスエルを研究的に製しただけで，試薬の量やAの回収率等についての検討は報告していない。

著者はA濃縮物を経済的に製造するという見地からエステル化の条件を吟味しその最適条件を得んとした。

実　験　の　部

I. アセチル化

1) 装　置

図に示すごとき装置を用いた。

2) 試　薬

ベンゾール　化学用

ピリヂン　特級又は1級を脱水，蒸溜して使用す。

アセチルクロリド　特級又は1級。析出物を有し，ベンゾールに溶解して白濁するようなものはエステル化に際し不良な結果を与えることが多い。

3%塩酸水

1～2%苛性カリ又は苛性ソーダ液

3) 実験方法

試料を適当量のベンゾールに溶解し，反応容器に入れ，これにピリヂンを加える。別にアセチルクロリドをベンゾールに溶解して置き乾燥した不活性ガス（N_2 又は H_2）*を通じ攪拌しつゝ除々に加える。

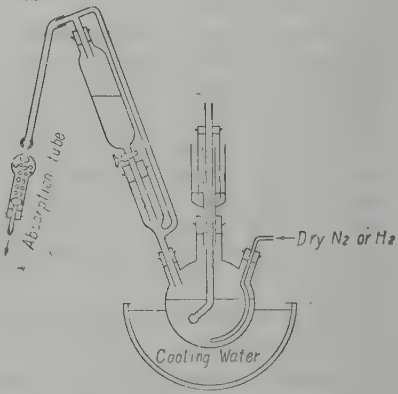


Fig. 1. エステル化装置
Apparatus for esterification

クロリドを加え終えた時，攪拌を止め，不活性ガス中に一定時間放置する。次に反応液に攪拌しつゝ水を加え塩酸ピリヂンの沈澱を完全に溶解せしめ，これを分液漏斗中に移し，初め約3%の HCl 水で下層が酸性となる迄洗い，ついで1回水洗した後1～2%のアルカリ液で，1回洗滌する。次に下層が中性となる迄水洗後，上層のベンゾール層のみを取りベンゾールを溜去し，試料の Acetate を得る。

4) 実験結果

I) エステル化条件の検討

* CO_2 は不可

エステル化に関する要因は多々あるが，著者は反応温度を室温程度とした時の反応時間，アセチルクロリド量，ピリヂン量を変えた場合のエステル化の程度を調べた。エステル化の程度を知るには，試料の重量，鹸化価或いは屈折率等のいづれを測定してもよいが，測定が容易で比較的正確な値を得やすいので屈折率をもつてエステル化の程度を示すことにした。倚試料のAが純品であればエステル化に必要なアセチルクロリド理論量は容易に算出出来るが，著者の試料はA濃縮物であつてA以外の物質を含んでいる為，エステル化の完了した時の鹸化価を測定し，それより OH 基1個に対するアセチルクロリドの理論量を算出した。

得られた結果を第1表に示す。

Table 1. 反応時間，アセチルクロリド量，ピリヂン量のアセチル化に及ぼす影響

Effect of reaction time, amounts of acetyl chloride and pyridine on th rate of acetylation.

Test. 1. 反応時間と屈折率との関係

Relation between reaction time and refractive index.

反応時間 Reaction time (min.)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5380
5	1.5190
10	1.5190
30	1.5190
60	1.5190

原A濃縮物単位 Potency of originae concentrte : 868,000 U.S.P.U/gr.

反応温度 Reaction temp. : 17°C

アセチルクロリド量 Amount of acetyl chloride : 2 moles/1 OH of orig. conc.

ピリヂン量 Amount of pyridine : 1.5 mole/1 mole of chloride

Test 2. アセチルクロリド量と屈折率との関係

Relation between amount of acetyl chloride and refractive index.

アセチルクロリド量 Amount of acetyl chloride (Mole/1 OH of orig. conc.)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5610
1	1.5487
1.5	1.5480
1.8	1.5470
2	1.5470
3	1.5470

原A濃縮物単位 Potency of original concemrat : 1130,000 U.S.P.U/gr.

反応温度 Reaction temp. : 22°C

反応時間 Reaction time : 60 min.

ピリヂン量 Amount of pyridine: 2 moles/1 mole of acetyl chloride

Test 3. ピルヂン量と屈折率との関係

Relation between amount of pyridine and refractive index.

ピリヂン量 Amount of pyridine (Mole/1 mole of acetyl chloride)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5610
1	1.5480
1.5	1.5470
2	1.5470
3	1.5470

原A濃縮物単位 Potency of original concentrate : 1130,000 U.S.P.U./gr

反応温度 Reaction temp. : 20°C

反応時間 Reaction time : 60 min.

アセチルクロリド量 Amount of acetyl chloride : 2 moles/1 OH of orig. conc.

これより見るとエステル化は比較的短時間で完了し，従来の文献に見られる如き長時間の放置（例えば BAXTER 等によれば2時間）は意味がないことが判つた。アセチルクロリド量は理論量の 1.8 倍以上使用すれば，完全にエステル化されることを知つた。この量は BAXTER 等の報告による 1.12 倍より過剰であるが，アセチルクロリドは水分による影響を受けやすいし，実験に使用した試薬の純度も不明であるから，尙精密な実験を行えばこの量を減ずることも可能であろう。ピリヂン量はクロリド 1 Mol に対し 1.5 Mol 以上あれば充分で従来の文献より少量でよい。尙A濃縮物のエステル化に際し，ピリヂン量を減ずればAが

Table 2. A濃縮物及び Acetate 中の Anhydrovitamin A 含量
Content of anhydrovitamin A in vitamin A concentrate and its acetate

	アンヒドロビタミンA含量 Content of anhydro-vitamin A
原A濃縮物 Original vitamin A concentrate	% 1.20
Acetate—I *	1.27
Acetate—II **	1.03

* アセチルクロリドを理論量の2倍，ピリヂンをクロリド量の1倍使用して得た Acetate.
Acetylated with 2 moles of chloride per 1 OH of orig. conc. and 1 mole of pyridine per 1 mole of chloride.

** アセチルクロリドを理論量の2倍，ピリヂンをクロリド量の1倍使用して得た Acetate.
Acetylated with 2 moles of chloride per 1 OH of orig conc and 1.5 mole of pyridine per 1 mole of chloride.

Table 3. アセチル化に於けるビタミンA回収率
Vitamin A recovery in acetylation

原料 Material	ビタミンA濃縮物 Vitamin A concentrate			アセテイト Acetate			ビタミンA回収率 Vitamin A recovery
	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/328	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/328	
	g	$\times 10^4$ U S P U		g	$\times 10^4$ U S P.U		%
マツコウ鯨分子蒸溜油 Molecular distillate of sperm whale liver oil	20.5	258	0.626	23.2	242	0.605	102
〃	7.865	210	——	8.758	184	——	97.5
〃	24.4	231	0.620	27.5	200.8	0.603	98.1
〃	0.3098	89.3	——	0.3396	76.0	——	96
鯨分子蒸溜油 Molecular distillate of whale liver oil	530	65.2	0.717	551	59.9	0.698	95.5
〃	27.3	203	——	31.0	179.9	——	101.5
マグロ肝油 Tuna liver oil	10	135	0.635	10.8	118	——	96.3
メヌケ肝油 Rock fish liver oil	15	244	——	17.2	203.4	——	95.5
アブラザメ肝油 Dog fish liver oil	8.2	67.6	——	9.3	56.5	——	94.7
スケソウ肝油 Pollack liver oil	5.2	178.3	——	5 8	157.7	——	98.2

Table 4 アセチル化に於けるビタミンA回収率（不純な試料を使用した場合）
Vitamin A recovery in acetylation (Vitamin A concentrate contaminated with fatty acid was used)

原料 Material	ビタミンA濃縮物 Vitamin A concentrate			アセテイト Acetate			ビタミンA回収率 Vitamin A recovery
	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/325	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E valut vatio 300/328	
	g	$\times 10^4$ U S.P.U.		g	$\times 10^4$ U.S.P.U.		%
マツコウ鯨分子蒸溜油 Distillate of sperm whale liver oil	0.654	171.8	——	0.587	144.6	——	82.1
〃	622	95.2	——	573	95.0		92
鯨分子蒸溜油 Distillate of whale liver oil	568	136	0.666	605	111.5	0.662	88

Anhydrovitamin A に変る懸念があったので，原試料及び出来た Acetate 中の Anhydrovitamin A を定量した。その結果を第2表に示す。

この結果によればエステル化に際してAのアンヒドロ化は殆ど起らない。

II） A回収率

種々な肝油より得たA濃縮物を試料としてアセチル化を行いAの回収率を求めた。この際エステル化の条件としては安全率を考慮し，時間を1時間，アセチルクロリドを理論量の2倍，ピリヂンなアセチルクロリド 1Mol に対し 2Mol の割合として実験を行った。

Table 5. アセチル化に於けるビタミンA回収率（不純なアセチルクロリドを使用した場合）
Vitamin A recovery in acetylation (impure acetyl chloride was used)

原料 Material	ビタミンA縮濃物 Vitamin A concentrate			アセテイト Acetate			ビタミンA回収率 Vitamin A recovery
	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/325	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/328	
分子蒸溜油 Molecular distillate of fish liver oil	g 22.6	×10⁴ U.S.P.U. 80.7	0.66	g 22.6	×10⁴ U.S.P.U. 71.3	0.65	% 88.3
サメ肝油 Shark liver oil	7	136	0.76	7.3	114.5	0.77	87.8
カジキマグロ肝油 Marlin and sword fish liver oil	8.14	101	—	7.33	81	—	76.7
〃	6.5	90.5	—	6.84	77.1	—	90.2

その結果は第3表の如くである。

A回収率は 95～100％で操作に注意して行えばアセチル化によるAの損失は殆ど無い。併しA濃縮物の中に石鹸を含む場合はアセチル化した後 Acetate 以外の不純物を除く際にアルカリ液で洗滌の時エマルジョンを形成し一部のAを洗液中に損失し勝ちで回収率は悪くなる。その例を第4表に示す。

勿論洗滌する際メタノールを使用し新たなベンゾールを以て数回抽出して洗液よりAを回収することは出来るが，この様な操作は特に工業的に実施する場合望ましくないのでアチチル化すべき濃縮物を可及的に脂肪酸を含まぬ様にする事が必要である。

アセチルクロルドの品質によりアルカリ洗滌，及び酸洗いに際してエマルジョンとなりAの損失を来たすことがある。また一般にA濃縮物の吸光比はアセチル化により低下するが，この場合は第5表に示す如く，吸光比があまり変らないか，却つて増大している。これは不純なクロリドを使用した為と考えられる。

Ⅱ．パルミチル化

1) 装　置

アセチル化の場合と同様な装置を使用した。

2) 試　薬

ベンゾール　　化学用
ピリヂン　　特級又は1級品を脱水蒸溜したもの。
パルミチルクロリド　日本油脂株式会社製のものをそのまゝ使用した。村井，赤染の方法[5]で測定した結果はパルミチン酸として 0.13％の遊離酸を含む。

3％塩酸水
2％苛性カリ稀メタノール溶液　　メタノール濃度 30～50％
アセトン　　化学用を脱水蒸溜したもの。

3) 実験方法

ベンゾールに溶解した試料を反応容器に入れ，これにピリヂンを加え，不活性ガスを通じ攪拌しつゝ，ベンゾールに溶解したパルミチルクロリドを加える。一定時間放置後，攪拌しつゝ水を加え塩酸ピリヂンの沈澱を溶解せしめ，更に分液漏斗に移し，初め約3％の HCl 水で洗滌し，水洗後2％苛性カリを含む 30％～50％のメタノール溶液にて下層が微アルカリ性となる迄洗滌する。洗液は新たにベンゾールにて数回抽出しAを回収する。初めのベンゾール液と洗液のベンゾール抽出液を合し，30％メタノールで1回洗滌後下層が中性となる迄水洗する。ベンゾール溜去後，得られる粗 Palmitate にアセトンを加え加熱溶解した後，不活性ガスを充塡し一夜冷蔵庫中に放置したる後，析出物を濾別する。析出物はアセトンでよく洗滌しAを回収する。濾液及び洗液を合しアセトンを溜去した後ベンゾールに溶解，アルカリ性稀メタノール溶液で洗滌，水洗後ベンゾールを溜去しA濃縮物の Palmitate を得る。

以上の操作を前のアセチル化の操作と比較すればアルカリ洗いにメタノールを使用したこと及びアセトン処理を行つた2点が異つている。メタノールを使用した理由はパルミチル化の場合，単に反応液をアルカリ水で洗滌しただけではエマルジョンとなり，過剰の試薬より来るパルミチン酸をAの損失なく除去することが出来ぬからである。又メタノールを使用するとビタミンAの一部を洗液中に損失するので，洗液よりAの

回収操作を行う必要がある。

又この操作を行うことによりパルミチン酸は殆ど完全に除去されるが，得られた粗パルミテイトは猶高融点の不純物を含むのでこれを除去する為にアセトン処理が必要となる。この不純物は融点 62°（未補正）分子量 475（実測）で，アルカリ水で除々に加水分解される点よりパルミチン酸の無水物でないかと考えるが*，詳しい確認は行わなかつた。このものは加熱すればアセトンに溶けるが室温ではパルミチン酸より更に難溶で殆ど不溶であるからアセトン処理により容易に除去出来る。又アセトン以外の溶剤として石油エーテルについても試験したが，アセトンよりやゝ多量に不純物を溶し，結晶が大型に析出して濾過がやゝ困難であるので，アセトンを使用することにした。

4） 実 験 結 果

I） エステル化条件の検討

反応時間，パルミチルクロリド量，ピリヂン量を変えた場合のエステル化の程度を調べた結果を第6表に示す。

Table 6 反応時間，パルミチルクロリド量，ピリヂン量のパスミチル化に及ぼす影響
Effect of reaction time, amounts of palmityl chloride and pyridine on the rate of palmitylation

Test. 1 反応時間と屈折率との関係
Relation between reaction time and refractive index

反応時間 Reaction time (min)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5260
10	1.5011
30	1.5011
60	1.5011
120	1.5019

原A濃縮物単位 Potency of original concentrate: 730,000 U.S.P.U/gr.
反応温度 Reaction temp : 15°C
パルミチルクロリド量 Amount of palmityl chloride : 2 moles/1 OH of orig. conc.
ピリヂン量 Amount of pyridine : 1.5 moles/1 mole of palmityl chloride

Test 2. パルミチルクロリド量と屈折率との関係
Relation between amount of palmityl chloride and refractive index.

パルミチルクロリド量 Amount of palmityl chloride (Mole/1 OH of orig. conc.)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5260
1	1.5049
1.5	1.5011
1.8	1.5010
2	1.5011
3	1.5011

原A濃縮物単位 Potency of original concentrate: 730,000 U.S.P.U/gr.
反応温度 Reaction temp. : 15°C
反応時間 Reaction time : 60 min.
ピリヂン量 Amount of pyridine: 1.5 mole/1 mole of palmityl chloride

Test 3. ピリヂン量と屈折率との関係
Relation between amount of pyridine and refractive index.

ピリヂン量 Amount of pyridine (Mole/1 mole of palmityl chloride)	屈折率 Refractive index (n_D^{40})
0	1.5260
1	1.5011
1.5	1.5008
2	1.5011
3	1.5011

原A濃縮物単位 Potency of original concentrate : 730,000 U.S.P.U/gr.
反応温度 Reaction temp. : 15°C
反応時間 Reaction time : 60 min.
パルミチルクロリド量 Amount of palmityl chloride : 2 moles/1 OH of orig. conc.

Table 7 パルミチル化に於けるビタミンA回収率
Vitamin A recovery in palmitylation

原料 Material	ビタミンA濃縮物 Vitamin A concentrate			パルミテイト Palmitate			ビタミンA回収率 Vitamin A recovery
	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/325	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/328	
	gr.	$\times 10^4$ U S.P.U.		gr	$\times 10^4$ U.S.P.U.		%
混合肝油 Mixed fish liver oil	2	115.8	0.794	3.8	62.9	0.774	103
〃	4.2	114.8	0.717	6.8	89.0	——	99

Table 8 パルミチル化に於けるビタミンA回収率
(アセトン処理前のアルカリ洗いを省略した場合)
Vitamin A recovery in palmitylation (With washing with alkali before acetone trcatment

原料 Material	ビタミンA濃縮物 Vitamin A concentrate			パルミテイト Palmitate			ビタミンA回収率 Vitamin A recovery
	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/325	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	吸光比 E value ratio 300/328	
	gr.	$\times 10^4$ U.S.P.U.		gr.	$\times 10^4$ U.S.P.U.		%
イシナギ肝油 Ishinagi liver oil	5.94	276.5	0.659	11.06	132.1	0.645	89
〃	9.7	221.5	——	17.2	111.4	——	89.3

Table 9. アセトン処理前のアルカリ洗い省略した場合としない場合のビタミンA回収率の比較
Comporison of vitamin A recovery with and without washing with alkali bebore acetore treatment.

	処理 Treatment	重量 Weight	単位 Vitamin A potency	回収率 Vitamin A recovery for orig. conc.	前処理に対する回収率 Vitamin A recorery for pre-treatment
アルカリ洗いを省略した場合 Without washing with alkali before acetone treatment	原A濃縮物 Original vitamin A concentrate	gr. 3.6	$\times 10^4$ U.S.P.U. 173	% ——	% ——
	1. 酸洗い後 After wahhing with acid	10	55.8	89.2	89.2
	2. アセトンにて不純物除去後 After acetone treatmet	7.24	77.1	89.5	100.0
	3. アルカリ洗い後 After washing with alkali	6.38	86.5	88.6	99
アルカリ洗いを省略しない場合 With washing with alkali before acetone treatment	原A濃縮物 Original vitamin A concentrate	3.7	118	——	——
	1. 酸洗いアルカリ洗い後 After washing with acid and alkali	7.6	57.6	100	100
	2. アセトン処理後 After acetore treatment	5.74	75.4	99.1	99.1
	3. アルカリ洗い後 After washing with alkali	5.18	81.9	97.4	98.2

エステル化程度はエステル化物の屈折率によつた。

これより見るとパルミチル化は従来云われていたよりも極めて短時間に完了し反応時間は 10 分間でも充分である。又パルミチルクロリドの量は理論量の 1.5 倍以上，ピリヂン量はクロリド 1 Mol に対し 1 Mol 以上あればよい。但しピリヂン量は 1 Mol 程度では反応後水を加えてもパルミチン酸クロリドが完全に分解されず残存し，Aの収率を落す原因となることがあるから 1.5 Mol 程度使用すれば安全である。

Ⅱ） Aの回収率

この方法によるパルミチル化に於けるAの回収率は第7表に示す如く 99～103 % で殆どAの損失はない。

*
$$RCOCl + C_5H_5N \rightarrow C_5H_5\overset{\oplus}{N}(RCO)\overset{\ominus}{Cl}$$
$$2C_5H_5\overset{\oplus}{N}(RCO)\overset{\ominus}{Cl} + H_2O \rightarrow (RCO)_2O + 2C_5H_5\overset{\oplus}{N}H\overset{\ominus}{Cl}$$
なる反応より酸無水物が出来ることは従来より知られている。[6]

猶 Palmitate 製造操作はかなり繁雑であるので、前後2回行つているアルカリ洗滌操作の内一方を省略することを考え，最初のアルカリ洗滌を行わず酸洗い後水洗のみを行つてみたところ第8表に示す如くA収率が約 90 % で非常に悪かつた。そこでこの原因をたしかめる為各操作後の回収率につき最初のアルカリ洗滌を省略した場合と省略しない場合を比較してみたところ第9表の結果を得た。

これより見ると最初のアルカリ洗いがAの回収率をよくする為には必要であることがわかつた。

摘　　要

A濃縮物のクロリドによるアセチル化及びパルミチル化の条件を吟味し次の結果を得た。

1) 反応時間は極めて短時間でよく，5～10 分にて殆ど完全にエステル化が行われる。
2) 所要クロリド量はアセテイトの場合は 1.8 倍，パルミテイトの場合は 1.5 倍で充分である。
3) ピリヂンはクロリド 1 Mol に対し 1.5 Mol 使用すれば充分である。
4) エステル化によるAの損失は殆ど無い。

本研究に当り始終御指導下さつた東秀雄博士に深謝いたします。

文　　献

1) T. Karrer : *Helv. chim. Acta*, **14**, 1431 (1931).
2) T.H. Mead : *Biochem. J.*, **33**, 538 (1939).
3) J.G. Baxter and C.D. Robeson : *Science*, **92**, 203 (1940); *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, 2411 (1942), **69**, 136 (1947).
4) 川上行蔵・山本厳夫 : 理研彙報，**13**，1524 (1934).
5) 村井孝一・赤染養一 : 油化協誌，**4**，48 (1955).
6) N.O.V. Sonntag : "The Reaction of Aliphatic Acid Chloride", *Chem. Rev.*, **52**, 294 (1953).

ニジマス卵のビオラキサンチン（予報）

平尾秀一・山田充阿彌・菊地 嶺
（東海区水産研究所）

Violaxanthin in Rainbow Trout Egg

Shuichi HIRAO, Juami YAMADA and Ryô KIKUCHI

It is very often observed that the hatching rate of the eggs of cultured rainbow trout differs considerably depending on the individuals of parent fish even when they are cultured in the same pond.

Supposing the poor hatching is ascribable to the lack of some nourishing elements, the authors have compared analytically the eggs of various hatching rates.

The Tochigi Prefectural Trout Hatchery offerd numbers of sample on the eyed stage with the data of various hatching rates. (Table 1.)

The results obtained are as follows;

1. The contents of moisture, total nitrogen, crude fat, crude ash, calcium and phosphorus do not differ markedly among the samples. It is noticeable that the content of iron is scarce in the eggs of low hatching rate. (Table 2.)

2. A kind of carotenoid was obtained from the egg. From its absorption maxima and chromatographic behavior this carotenoid can be identified with violaxanthin. (Table 3, Fig. 2)

3. Astacene, violaxanthin, vitamin A and carotene (uncertain) were obtained from each sample. The difference of contents in astacene, vitamin A and carotene do not seem to have a relation to the hatching rate. (Table 4.) The content of violaxanthin decreases in order of lower hatching rates, the fact reveals that this carotenoid may be an important element on the hatching of the eggs of cultured rainbow trout.

養殖のニジマスは天然産のサケ，サクラマス等に比し卵の孵化率が相当に低いのが普通である。勿論ニジマスとサクラマスとでは魚種が異るから天然に生育しているニジマスの卵と養殖のそれとの孵化率を比較しなければ正確な処は判らないことであるが，親魚の生育環境や餌料が卵の質に大いに影響するであろうと云う事は，同じ養魚池に育つたニジマスの親魚に於ても個体によつてその卵の孵化率に著しい差のある事からも想像できる。然し現在この種の問題についての研究は殆ど行われていない。

著者等はニジマス卵の孵化率の低いのは卵中に含まれる或種の栄養成分の欠亡によるものと考え，その成分が何であるかを明かにするために本研究に着手した。本報に於ては栃木県水産指導所から提供されたニジマス卵につき一般分析及びカロチノイドの検索を行つた結果を報告する。

試　料

試料として孵化率の良好なもの，中程度のもの，劣るものゝ三種を選んだ。各試料卵の孵化率を栃木県水産指導所に於て試験された成績を第1表に掲げる。第1表の試料Ⅰ，Ⅱは孵化良好のもの，Ⅲは中程度のもの，

昭和 29 年8月 31 日受理　東海区水産研究所業績B第 162 号

Table 1. ニジマス卵の孵化成績（栃木県水産指導所）

Hatching rate of rainbow trout eggs in 1954 season, Tochigi Trout Hatchery

試料番号 Sample No*	収容卵数 Number of eggs collected 粒	斃死数 Number of eggs died 尾	浮上尾数 Number of eggs hatched 尾	浮上比率 Hatching rate %
I	4228	304	3924	92.90
II	6286	941	5345	85.03
III	1564	397	1167	73.97
IV	1208	1091	117	9.69

* In order of hatching rate

Table 2. ニジマス卵の一般成分

Chemical constituents of rainbow trout egg

試料番号 Sample No	卵一ケの重量 Average weight of an egg g	水分 Water %	全窒素 Total N %	粗脂肪 Fat %	灰分 Ash %	Ca mg %	P mg %	Fe mg %
I	0.123	62.5	3.43	5.62	1.38	54.0	345	1.56
II	0.074	62.9	3.12	——	1.42	46.4	344	1.40
III	0.086	61.5	3.10	6.42	1.37	66.9	370	1.30
IV	0.092	62.8	3.19	5.97	1.42	53.8	350	0.90

IVは劣るものである。試料IIは昭和29年3月29日採集，I，III，IVは同年4月15日に採集し実験に供した。各試料に何れも発眼期のもので，ほゞ同じ発生段階にあるものである。

結　　果

1）卵の一般分析及無機質

一般分析及び無機質の値を第2表に示す。卵1ケの平均重量，水分，粗蛋白質，粗脂肪，粗灰分，Ca，P，に於ては四者間に差異が認められない。たゞ Fe に於ては孵化率の低い卵ほど Fe の含量が低いことが目立つている。

2）カロチノイド

ニジマスの卵には親魚の個体により赤味の強いものと黄味の強いものとがあるが，何れの色調のものに於ても濃色のものが孵化率が高く，淡色のものは孵化率が低い由である。我々は卵のカロチノイドの組成や含量が孵化に深い関係があるべき事を予想してカロチノイドの検索と定量を行つた。

先ずマス卵のエーテル抽出物を常法通り脂肪酸と不鹼化物とに分けた。脂肪酸部は濃赤色，不鹼化物は橙赤色乃至橙黄色を呈していた。脂肪酸部が赤色を呈するのは試料中のアスタシンのの大部分が脂肪酸画分に移行するためで，第1図に示す如くその吸光曲線はアスタシンに特有の形状を呈している。

不鹼化物は之を石油エーテル溶液とし活性アルミナに吸着せしめ，順次に石油エーテル，石油エーテル中にエーテルを5％（容量）混じたもの（5％エーテルと略す。以下同様），10％エーテル，20％エーテル，50％エーテルにて展開し，次の4画分を得た。

1. **カロチン画分**　石油エーテルのみで展開して極めて淡い黄色液を得た。収量が少い為本画分の色素がカロチンであるか否か明かでなかつたが，一応カロチンとして計算した。

2. **ビタミンA画分**　カロチン画分を除いた後，5％～15％エーテルにて展開し淡黄色の液を得た。この画分は通常ならばビタミンAの来るところであるが，紫外部にはビタミンAの極大を有しない。然しカー

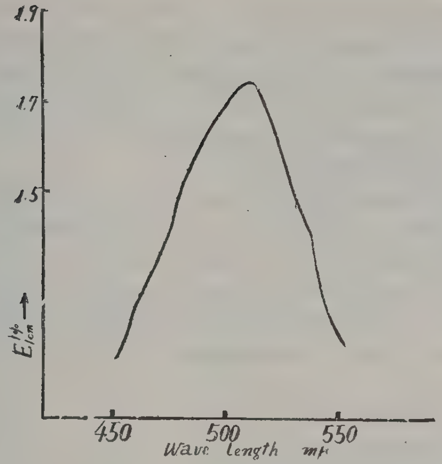


Fig. 1 ニジマス卵のアスタシンの吸光曲線
Absorption curve of astacene in rainbow trout eggs.

ルブライス試薬により淡い青色を呈するので，比色値よりビタミンAとして計算した。

3. ビオラキサンチン画分 ビタミンA画分を除いた後の吸着筒には濃黄色の色素が吸着されて居り此の色素は 25 %エーテルによつて

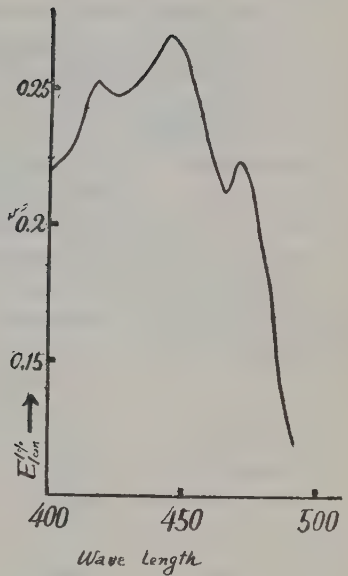


Fig. 2 ニジマス卵のビオラキサンテンの吸光曲線
Absorption curve of violaxanthin in rainbow trout eggs (in Ethanol)

Table 3 ビオラキサンテンの吸収極大
Absorption maxima of Violaxanthin

溶媒 Solvent	測定者 Determined by	吸収極大 absorption maxima λmμ		
C S_2	Karrer	501	470	440
	実測 Authors	504	476	—
$CHCl_3$	Karrer	482	451.5	424
	実測 Authors	480	454	—
Petrol	Karrer	472	443	417.5
	実測 Authors	472	444	—
Ethanol	Karrer	471.5	442.5	417.5
	実測 Authors	470	445	418
Methanol	Karrer	469	440	415
	実測 Authors	470	440	415

も展開されない。そこで 50 %エーテルを以て溶出し濃黄色の溶液を得た。この色素が何であるかを調べるため，その一部を取り夫々 CS_2, $CHCl_3$, メタノール，エタノール，石油エーテル溶液に於ける吸収極大の位置を測定しそれらがビオラキサンテンの吸収極大にほゞ一致することを認めた。第2図に本色素のエタノール溶液に於ける吸光曲線を示す。各種溶媒中に於ける本色素の吸収極大の位置を Karrer* の報告によるビ

* Paul Karrer : Carotenoides, Elsvier Publishing Co. Inc. 1950

オラキサンチンのそれと併せて第3表に示す。なお念のためタンポポの花弁から不鹸化物を取り，アルミナクロマトグラフによりビオラキサンチンを分離し，之をマス卵のビオラキサンチン画分の色素と混合して再びアルミナ筒に吸着せしめ種々の展開剤による行動を観察したところ両者は分離せず従つて同一物と考えられる。依てマス卵不鹸化物の本画分をビオラキサンチンと認め KARRER に従つてその量を計算した。ビオラキサンチンは KUHN * 等によつて，サンシキスミレの花弁から発見され其後多くの植物中にその存在が認められているが，未だ動物組織中に在存していると云う確かな報告はない。

4. アスタシン画分 アルミナ吸着筒の最上部には少量の赤色色素が強固に吸着せられ，これはエーテル，メタノール，$CHCl_3$，CS_2 等の何れによつても溶出しない。これはアスタシンの一部が不鹸化物中に混入して来たものと考えられる。此の量は次の様にして測定した。即ち不鹸化物を CS_2 溶液としてその E510 mμ を測定し，次に CS_2 を追出して不鹸化物を石油エーテルに溶解しその色素を一旦全部アルミナに吸着せしめ，次に之を含水エーテルにて抽出し，アスタシン以外の色素を全部回収して CS_2 溶液となしその E 510 mμ を測定し，前後の差を不鹸化物中のアスタシンの量とし，前記の脂肪酸部のアスタシンと合して，卵中の総量を算出した。

Table 4 ニジマス卵のカロテノイド

Carotenoides in rainbow trout egg

Sample No.	Astacene γ %	Violaxanthin γ %	Vitamin A I. U. per 100 g	Carotene γ %
I	236	61.0	60.3	5.2
II	—	88.2	59.6	—
III	87.5	18.6	79.5	4.4
IV	141.5	18.1	54.5	2.4

以上の結果をまとめて第4表に掲げる。表に見る如く，アスタシン，ビタミンAの量は卵の良否とはあまり関係がない様である。カロチンの量は四者共極めて少いので卵の良否との関係はやはり明瞭でない。

しかしビオラキサンチンの含量は孵化の良好な卵には高く，劣る卵には低く，其の差も3～4倍に達することが認められ，この色素が養殖のニジマスの卵の孵化に何等か重要な役割を果していることが想像される。

以上の僅かな実験結果からは確定的なことはまだ何も得られないが，今後は一層詳細な研究を行う予定である。

本研究に当り終始御指導を賜つた東秀雄先生ならびに，試料と貴重な助言を賜つた栃木県水産指導所斎藤弁技師に厚く御礼申上げる。

* R. KUHN and A. WINTERSTEIN : Ber., 64. 326—32 (1931)

魚肉のビタミンAに關する研究— II.
体側の左右によるビタミンA含量の差異

平尾 秀一・山田 充阿彌・菊地 嶺
(東海区水産研究所)

日本水産学会誌
第二十巻 第八号 別刷
昭和二十九年十二月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 8, December, 1954

魚肉のビタミンAに關する研究—II.
体側の左右によるビタミンA含量の差異

平尾 秀一・山田 充阿彌・菊地 嶺
(東海区水産研究所)

Vitamin A in Fish Meat—II.
Variation in the Vitamin A Content in Fish Meat by the Body Side.

Shuichi HIRAO, Juami YAMADA and Ryô KIKUCHI

In the previous work when the authors studied the vitamin A content in fish meat by the anatomical locality, all the samples were taken from one side of the bodies.

The present paper deals with the difference in vitamin A content of the meat sampled from the left and right sides of fish body.

In the sardine, a filefish *Cantherines modestus*, *Promethichthys prometheus* and harvest fish *Pampus argenteus*, the vitamin A content in meat is not always equal to each other side of the body (Tables 1～5, Figs. 1,2).

In flatfishes, the vitamin A content in meat of the eyed sides are higher than that in the blind sides. In the case of meat of flounder, *Paralichthys olivaceus*, the difference in vitamin A content between both sides is remarkable on the surface layer but very small on the inner layers (Tables 6～8, Figs. 3, 4).

前報[1]に於て著者等は魚肉のA* 含量は同じ魚体内に於ても部位によつて相違することを述べたが，その実験に用いた試料肉はすべて魚体の一方の側からのみ採取し，体側の左右に於ける肉のA含量の差異にには触れなかつた。本報に於ては此の点を数種の魚について調べた結果を報告する。

ヒラメ，カレイ類の如く体の左右（表裏）の形状が明瞭に相違するものを除けば，多くの魚類の外型は脊椎骨に関して左右対称型である。しかしこれらの魚類に於ても内臓諸器官の形状や配置状況は必しも左右対称になっていない。特に肝臓の形状が著しく左右非対称型になっている魚種も少くなく，又，マナガツオの類に於ては，肝臓，幽門垂が各々二個に分れ腹腔内の左右に一ケ宛互に独立して存在し，その大さにも著しい差が認められる。

末広[2]は生簀中に飼いならされたイワシは多くの場合，clockwise に旋廻して游泳し，又このイワシを水中から取出して窒息死させると，右屈に硬直するものの数が左屈に硬直するものの二倍近くに達することを見出し，この現象はイワシは右側の筋肉が発達している為に起るものであると述べている。

この様に体の左右の筋肉が機能的にも多少相違するものとすれば，そのA含量にも何等かの差異のある事が予想せられる。

実 験 方 法

供試魚としては体型の左右対称の例として，マイワシ，ウマヅラハギ，クロシビカマス（スミヤキ）体型は左右対称であるが内臓が特に非対称の例としてマナガツオ，体型の非対称の例として，ヒラメ及び各種のカレイ類を用いた。其他の実験方法は前報と同様である。なお本報にいう魚体の左右とは魚体の背部を上に

1954 年 12 月 2 日受理 東海区水産研究所業績 B 第 188 号（印刷費負担）

* ビタミンAを単にAと略記する。

腹部を下にし，尾部を手前に向けた時の左右である。

実 験 結 果

1. マイワシ

昭和29年3月26日築地魚市場で購入したものを試料とした。内臓と皮とを丁寧に除き体の左右の肉を全部取つてAを測定した結果は，第1表の如くで左右の肉のA含量が著しく相違する結果が得られた。

この結果に於ては左側にA含量が高い個体が多かつたが常にそうであるか否かは本実験の範囲ではまだ明かではない。

Table 1. マイワシのビタミンA
Vitamin A of sardine.

体長 Body length	体重 Body weight	性別 Sex	肉100g中のA Vitamin A in 100g of meat	
			左側 Left side I.U./100g	右側 Right side I.U./100g
cm 21.0	g 114	♀	137	183
19.8	105	♂	124	100
20.5	97	♂	161	115
20.5	94	♂	102	67
19.4	88	♂	167	119
19.2	86	♂	112	162

2. ウマヅラハギ

同年3月2日真鶴にて入手した。第1図に示す部位の夫々対称の箇所から試料肉を取りAを測定し，第2表の値を得た。

測定した三ケ所のA含量は何れも右側が稍高つた。

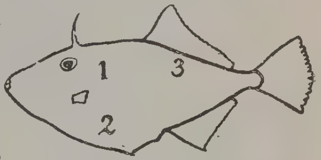


Fig. 1 ウマヅラハギに於ける試料採取部位
Locality where meat is taken from *Cantherines modestus* in Table 2.

3. クロシビカマス

同年 10 月5日真鶴にて入手した2尾について測定した結果を第3表に示す。

一尾は左右の肉のA含量に殆んど差がなく，他の一尾には稍差異が見られた。

4. マナガツオ

Table 2. ウマヅラハギ体各部のビタミンA
Vitamin A of *Cantherines modestus* (GÜNTHER). Body length 28.2 cm, body weight 720 g.

部位 Locality (See Fig. 1)	左側 Left side			右側 Right side		
	肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g	肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g
1	118	0.23	513	150	0.20	750
2	170	0.30	567	179	0.25	716
3	340	2.33	147.5	456	1.27	359

同年3月29日築地魚市場にて購入した。前にも述べた如く本種は肝臓，幽門垂が互に二ケ宛分離独立して存在している。それらの重量，A含量は第4表に示す如くで左右に於て著しい差異が認められる。

Table 3. クロシビカマスのビタミンA
Vitamin A in *Promethichtys Prometheus* (CUVIER & VALENCIENNES).

体長 Body length	体量 Body weight	肉100g中のA, Vitamin A in 100 g of meat	
		左側 Left side I.U./100 g	右側 Right side I.U./100 g
cm 33.6	g 224	40.8	42.0
31.9	197	51.6	60.5

第4表の試料魚IIIを第2図に示す如き部位に分ち体の左右の肉のA含量を測定し第5表の値を得た。

この例に於ては左右に殆んど差が認められなかつた。

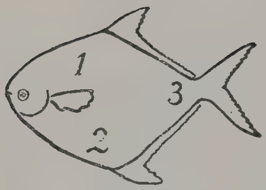


Fig. 2. マナガツオに於ける試料採取部位
Locality where meat is taken from *Pampus argenteus* in Table 5.

Table 4. マナガツオの肝臓，幽門垂のビタミンA
Vitamin A in the liver and pyrolic caeca of *Pampus argenteus* (EUPHRASEN).

試料番号 Sample No.	体長 Body length cm	体重 Body weight g		左側 Left side 重量 Weight g	組織1g中A Vitamin A in 1g of tissue I.U.	右側 Right side 重量 Weight g	組織1g中A Vitamin A in 1g of tissue I.U.
I	25.5	650	肝臓 Liver	3.1	45	1.4	175
			幽門垂 Pyrolic caeca	2.0	533	0.8	378
II	24.5	560	肝臓 Liver	2.9	1070	2.1	948
III	33.0	1325	肝臓 Liver	9.0	854	4.6	434
			幽門垂 Pyrolic caeca	3.2	206	2.0	330

Table 5. マナガツオ体各部のビタミンA（第4表 試料 III）
Vitamin A in *Pampus argenteus* (EUPHRASEN) by anatomical locality, sample No. III in Table 4.

部位 Locality (See Fig. 2)	左側 Left side 肉100g中A Vitamin A in 100 of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g	右側 Right side 肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g
1	214	4.28	50.0	230	3.29	69.9
2	132	1.71	77.3	142	2.00	71.0
3	109	2.09	52.2	92	2.06	44.7

5. ヒラメ

同年3月2日真鶴にて入手した。皮を除いた魚体を第3図に示す如き部位に分ち有眼側（左側）と無眼側（右側）とから夫々対称の位置にある試料肉を採取しAを測定した結果を第6表に示す。

互に対応する部位に於てはすべて有眼側の方が無眼側よりもA含量の高いことが認められる。又第3図中 4′ の部位に於て試料肉を表層部と深部とに分けてAを測定したが深部の肉に於ては有眼側と無眼側とに差異はなく，表層部に於ては著しく相違する事が知られた。

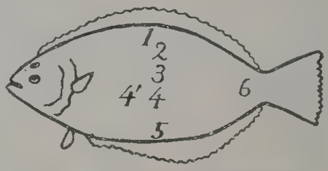


Fig. 3. ヒラメに於ける試料採取部位
Locality where meat is taken from flounder in Table 6, 7.

Table 6. ヒラメ体各部のビタミンA
Vitamin A of flounder by anatomical locality. Body length 64.0 cm, body weight 4840 g.

部位 Locality (See Fig. 3)	有眼側 Eyed side 肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g	無眼側 Blind side 肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g
1	152	12.9	11.8	117	16.5	7.1
2	26	0.30	86.7	16	0.40	40.0
3	39	0.33	118.1	31	0.39	79.5

4	157	20.1	7.8	104	11.6	89.6
4′ 外 側 surface layer	151	0.86	175.5	58	1.08	53.6
4′ 内 側 deep layer	52	0.34	153.0	52	0.54	96.2
5	58	1.06	54.7	43	1.14	37.7
6	89	1.10	80.9	92	1.32	69.6
血 合 dark meat	102	6.37	16.0	63	4.45	14.2

Table 7. ヒラメ体各部のビタミンA

Vitamin A of flounder by anatomical locality. Body length 34.5 cm, body weight 550 g.

部 位 Locality (See Fig. 3)	有 眼 側 Eyed side			無 眼 側 Blind side		
	肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g	肉100g中A Vitamin A in 100 g of meat I.U.	含油量 Oil content %	油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g
2	84	0.25	336	49	0.23	215
3	167	0.22	760	144	0.26	554
4	242	0.17	1420	158	0.28	564

本試料魚と同時に入手した別のヒラメについても同様の測定を行い第7表の結果を得た。この例に於ても有眼側の肉のA含量が無眼側のそれよりも遙かに高い結果を得た。

第6表に得られた数値から，肉の含油量とその油のA濃度との関係を図示すると第4図の如くになる。

即ち前報にも述べた如く，両者の対数値は直線を形成するが，有眼側の値と無眼側の値とは互に稍離れた平行線を形成し，無眼側の直線の方が稍低く位置している。これは脂質の消費や蓄積の状況が有眼側と無眼側とで多少異る事を示すものであろう。

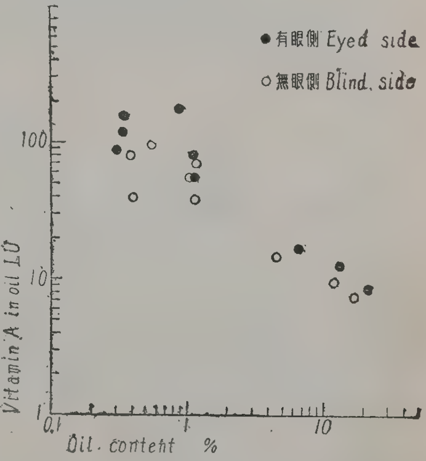


Fig. 4. ヒラメ体各部に於ける肉の含油量と脂質のビタミンA濃度との関係

Relation between the oil content and the vitamin A concentrate in the oil of flounder meat.

6. カレイ類

種々のカレイについて有眼側と無眼側の互に対称の位置にある肉のA含量を測定した結果を第8表に掲げる。

いづれも有眼側の方が無眼側よりもA含量が高いが，その相違が数倍にも達するものと，あまり相違しないものがあることが知られた。

摘 要

1. マイワシ，ウマヅラハギ，クロシビカマス，マナガツオにつき実験し体側の左右に於ける肉のA含量は必ずしも等しくない事を認めた。

2. ヒラメ，カレイ類に於ては有眼側の肉のA含量は常に無眼側よりも高く，又ヒラメについて，深部の肉のA含量は両側に差はないが，表層の肉にはその差が著しい事を認めた。

本研究に当り終始御指導を賜つた東秀雄先生に厚く御礼申上げます。

文 献

1. 平尾，山田，菊地：日本水産学会誌 19，1047，(1954).
2. 末広恭雄，魚類生理学の実際，竹内書房，p. 22 昭和22年。

Table 8. カレイ類のビタミンA
Vitamin A of flatfishes

魚種 Species	体長 Body length cm	体重 Body weight g	肉 Meat 有眼側 Eyed side: 肉100g中A Vitamin A in 100g of meat I.U.	有眼側 Eyed side: 含油量 Oil content %	有眼側 Eyed side: 油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g	無眼側 Blind side: 肉100g中A Vitamin A in 100g of meat I.U.	無眼側 Blind side: 含油量 Oil content %	無眼側 Blind side: 油のA濃度 Vitamin A in oil I.U./g
アカガレイ *Hippoglossoides elassodon* ♀	32.0	513	57	2.46	23.2	49	1.47	33.3
マツカワガレイ *Verasper moserii*	32.1	832	60	1.48	40.6	52	1.52	34.2
マガレイ *Limanda angustirostris*	21.5	176	137	3.70	37.0	47	3.34	14.1
マコガレイ *Limanda yokohamae*	25.5	330	99	0.77	128.5	56	1.56	36.1
〃	25.0	300	62	1.49	41.6	45	1.56	28.8
イシガレイ *Kareius bicoloratus*	38.0	1100	56	3.72	15.1	41	5.40	7.6
〃	29.5	570	51	4.13	12.4	42	4.28	9.9
ヤナギガレイ *Microstomus Kitaharae*	22.3	960	84	0.78	107.5	31	0.45	69.0
サメガレイ *Clidoderma aspperrimum*	27.0	510	110	1.01	109.0	91	1.00	91.0
シマウシノシタ *Zebrias zebrinus*	16.2	690	83	0.63	132.0	47	0.30	158.0
クロウシノシタ *Rhinoplagusia japonica*	26.0	100	36	0.54	66.7	5	0.29	17.3

魚肉のビタミンAに関する研究—III.
魚の個体による肉のビタミンA含量の差異

平尾秀一・山田充阿彌・菊地 嶺
(東海区水産研究所)

Vitamin A in Fish Meat—III.
Individual Fluctuation in the Vitamin A Content in Fish Meat

Shuichi HIRAO, Juami YAMADA and Ryô KIKUCHI

Among the same species of fish used for the study, the vitamin A content in the meat has shown fluctuation up to a maximum about 1.3 to 2.9 times as much as a minimum according to individuals, even when there were little or no difference in biological attributes of the samples such as size, age, sex, fishing locality and season (Table 1).

However, the difference in these attributes seldom affected this range of fluctuation in the vitamin A content of meat so far as the same species was concerned. Whereas, the vitamin A in the liver of the same species fluctuated to considerable extents depending on individuals (Tables 2,3,4,5,6).

Regarding relationship of the contents of oil and vitamin A in meat an observed tendency is that higher the oil content, the greater is the gain of vitamin A (Table 4).

Among number of individuals of the same species, the relationship between the oil content of meat (F%) and the vitamin A concentration (I.U./g of the oil) may be represented as in Fig. 1, using the same equation as reported in a previous paper (Jap. Soc. Sci. Fish. Vol. 19, No. 10, 1954) which is:

$$\log A = b - a \log F$$

here a and b are constant but vary depending on species.

緒 言

前報及び前々報[1]に於て著者等は魚肉のA* 含量は，同じ魚体内に於ても体の部位によって相違し，体各部の肉の含油量とその油のA濃度との間には一定の関係が存在することを述べた。

本報に於ては肉のA含量の個体による差異及び肉のA含量と肝臓のA含量との関係を，種々の魚類について実験した結果を報告する。

同じ魚種に於ては，肝臓のA含量は他の条件が略同様の場合には魚体の年令と共に大となり，又年令の等しいものに於ては生長の遅い個体の方が早い個体よりも肝臓中にAを多く含んでいる現象は既に知られているが，肉に於てはこれらの点が未だ明かにされていない。第1報に於ても述べたように魚体に於けるAの生化学的意義を明かにする上にも又食料としても，魚肉についてこれらの点を明かにしておく必要があると考えている。

実 験 方 法

供試魚は出来るだけ鮮度のよいものを用い，前報に述べたような魚体の部位による影響をなくする為，皮を除いた魚体の両側の肉を全部取って細かく刻み混合してその一部を取り，特に大型魚の場合には体の各部から肉を取って細かく刻んで混合し試料とした。Aの定量法は前報と同様である。

実 験 結 果

1. **同種，同大，同性の魚類間のA含量の差異。** 同じ漁場で同時に漁獲された魚につき，同性で体重年令が等しいものを選んで，その肉と肝臓の含油量及びA含量を測定した。その結果を第1表に示す。

1954 年 12 月 27 日受理 東海区水産研究所業績B第 189 号（印刷費負担）

* 本報に於てはビタミンAを単にAと略記する。

この様に条件がほゞ等しいと考えられるものに於ても A 含量は個体によつて相違し，各魚種について肉のA含量の測定値の大なる方を小なる方で割つた商は 1.3~2.9 であつた。又同じく肝臓のA含量の大なる方を小なる方で割つた商は 1.0~11.5 であつた。

本表の 19 例の内3例（サンマ，アユ，ウグイの各1例）を除けば同種の魚に於ては肝臓にA含量の多い個体の方が，肉のA含量も多く，肝臓中のAと肉中のAとの間には何等かの関係のあることを思わしめる。

2. **大さの異る試料魚に於ける肉のA含量の差異。** 同時に同漁場で漁獲された種々の大さの同種の魚につき肉と肝臓とのA含量を測定した。その結果を第2表に掲げる。

肉のA含量は個体の大小によつても異る。これらの魚種の各々について，肝臓と肉とのA含量の測定値の最大値を最小値で割つた商を第3表に示す。

Table 3. 第2表の魚種の各々に就ての測定値の最大値を最小値で割つた商
Maximum/minimum of vitamin A content of fishes as in Table 2.

魚種 Species		肉のA含量の 最大値/最小値 Max./Min. of v.A content in meat	肝臓のA含量の 最大値/最小値 Max./Min. of v.A content in liver
ヘダイ	*Sparus aries*	1.87	2.4
メジナ	*Girella punctata*	2.01	31.2
イサキ	*Parapristipoma trilineatum*	1.34	1.78
マハタ	*Epinephelus septemfasciatus*	4.11	1.38
スズキ	*Lateorabrax japonicus*	1.09	132.0
マサバ	*Pneumatophorus japonicus*	3.2	16.9
マルソーダガツオ	*Auxis maru*	3.43	11.9
ヒラソーダガツオ	*Auxis hira*	1.95	5.4
クロシビカマス	*Promethichthys prometheus*	3.67	11.3
マアジ	*Trachurus trachurus*	1.73	——
ムロアジ	*Decapterus muroadsi*	1.53	1.31
タカベ	*Labracoglossa argentiventris*	1.60	1.17
サンマ	*Colorabis saira*	2.03	4.91
〃	〃	1.21	2.77
タチウオ	*Trichiurus japonicus*	1.27	3.59
ヤマトカマス	*Sphyraena japonica*	2.04	6.16
マボラ	*Mugil cephalus*	1.46	8.86
イシモチ	*Sciaena schlegelii*	1.21	2.0
ウミタナゴ	*Ditrema temmincki*	5.80	405.0
サヽノハベラ	*Pseudolabrus japonicus*	2.18	2.50
ニザダイ	*Xesurus scalprum*	1.07	3.49
カワハギ	*Menacanthus cirrhifer*	2.60	1.41
ホウボウ	*Chelidonichthys kumu*	1.17	1.53

即ち肝臓のA含量は個体によつて数倍から数十倍，時には数百倍の差異があるが，肉のA含量の差異は多くは1～3倍までで前項に述べた同大の魚に於けるものとほゞ同程度であり，差の最大のものに於ても6倍以下であつて，東等[2]がアブラザメに於て報告している結果と同様であつた。

同種の魚に於て，個体の大小，肝臓のA含量及び肉の含油量が，夫々肉のA含量とどの様な関係にあるかを見ると第4表の如くになる。

Table 4. 第2表の魚種に於ける，魚体の大小，肝臓のA含量及び肉の含油量と肉のA含量との関係
Relationships between the vitamin A content in meat and the body weight, vitamin A content in liver and the oil content in meat of fishes as in Table 2.

	例数 Number of case
同魚種に於て **Between size and meat of same species;**	
I. 大型魚の方が肉のA含量の多いもの The bigger the body, the richer the vitamin A content in meat	9
II. 小型魚の方が肉のA含量の多いもの The smaller the body, the richer the vitamin A content in meat.	11
III. どちらにも属するもの Belonging to either type.	3

Table 1. 同時に同漁場で漁獲され体重，年令を等しくする魚類のＡ含量

Vitamin A content of various fishes in alike growth by species available from the same sources.

魚種 Species	体長 Body length cm	体重 Body weight g	肉 Meat: 含油量 Oil content %	肉 Meat: 油中A Vitamin A in oil I.U./g	肉 Meat: 100g中A Vitamin A in 100g of meat I.U.	肝臓 Liver: 重量 Weight g	肝臓 Liver: 含油量 Oil content %	肝臓 Liver: 油中A Vitamin A in oil I.U./g	肝臓 Liver: 組織1g中A Vitamin A in tissue I.U./g	備考 Remarks
マサバ *Pneumatophorus japonicus*	36.4	792	11.80	6.86	81	10.7	18.0	33,400	6,020	1954. 10.4 真鶴 Manazuru
	36.2	796	7.21	5.37	38.7	11.5	16.2	15,200	2,460	〃 〃 〃
サンマ *Colorabis saira*	26.2	76.0	3.09	15.2	47	4.5	10.33	99.5	10.3	1954. 9.30 築地市場 Tsukiji
	26.2	76.5	4.98	9.42	47	5.5	21.0	131	27.5	〃 〃 〃
	25.0	77.0	6.33	8.27	52.4	5.5	23.45	56	13.1	〃 〃 〃
	30.4	127	2.16	24.4	52.6	9.2	22.8	2.46	50.7	1954. 10.4 築地市場 Tsukiji
	29.0	126	5.36	10.1	54.1	9.3	25.3	2.0	50.6	〃 〃 〃
シマイサキ *Therapon oxyrhynchus*	19.4	216	2.13	11.8	25.1	8.2	19.35	2,320	450	1954, 10.4 真鶴 Manazuru
	18.4	192	2.74	11.6	31.9	6.7	26.85	2,870	772	〃 〃 〃
クロシビカマス *Promethichthys prometheus*	31.3	165	3.58	20.4	73.2	4.2	4.12	9,520	392	1954. 10.4 真鶴 Manazuru
	31,2	166	7.36	8.02	59.0	3.5	4.87	6,820	332	〃 〃 〃
ヤマトカマス *Sphyraena japonica*	26.5	158	6.51	4.7	30	—	—	—	—	1952. 7 真鶴 Manazuru
	27.0	152	5.14	13.6	70	1.5	3.24	7,220	234	〃 〃 〃
アユ *Plecoglossus altivelis*	19.3	91.0	3.21	23.5	75.5	9.5	—	—	12.8	♀ 1953. 3 厚木 Atsugi
	18.5	93.0	5.48	16.1	88	11.3	—	—	14.9	♀ 〃 〃
	18.7	84.5	4.96	17.1	84.5	9.2	—	—	14.5	♀ 1953. 3 厚木 Atsugi
	19.7	80.5	4.93	20.3	100	7.0	—	—	62.7	♀ 〃 〃
	21.0	81.0	1.48	108.8	161	8.5	—	—	97.2	♀ 1953. 2 厚木 Atsugi
	20.0	82.0	3.84	14.1	49	8.3	—	—	61.9	♀ 〃 〃
	18.2	96.0	4.18	16.8	70	9.7	—	—	46.5	♀ 1953. 9 厚木 Atsugi
	17.9	94.0	3.31	24.5	81	8.3	—	—	64.5	♀ 〃 〃
	16.2	84.0	3.28	27.7	91	7.8	—	—	36.7	♀ 1953. 9 厚木 Atsugi
	17.7	81.0	4.38	22.8	100	6.0	—	—	73.5	♀ 〃 〃
	15.1	43.0	3.03	38.4	116	3.1	—	—	121	♂ 1953. 9 厚木 Atsugi
	14.2	46.0	5.06	26.7	135	4.4	—	—	70	♂ 〃 〃
ウグイ *Tribolodon hakonensis*	19.0	131	3.76	27.4	103	16.5	26.6	785	209	♀ 1953. 8 厚木 Atsugi
	19.0	121	3.03	34.7	105	11.0	35.5	460	163	♀ 〃 〃
ヘラブナ *Carassius carassius*	16.0	107	0.082	188.0	15	8.8	1.26	370	4.8	♀ 1953. 6 神崎 Kôzaki
	15.9	114	0.57	75.8	43	5.2	1.98	2.840	55.4	♀ 〃 〃
マブナ *Carassius auratus*	12.7	65	2.93	22.8	66.7	5.4	—	—	60.4	♀ 1952. 11 厚木 Atsugi
	12.4	61	1.26	43.6	55	7.5	—	—	40.6	♀ 〃 〃
	14.0	85	2.73	18.5	50.5	13.0	—	—	61.1	♀ 1952. 11 厚木 Atsugi
	13.0	70	2.74	14.0	38.5	6.7	—	—	37.5	♀ 〃 〃
	13.0	74.5	2.01	45.3	91	12.6	—	—	43.6	1952. 12 厚木 Atsugi
	14.0	71.5	3.50	29.5	103	6.3	—	—	52.5	〃 〃
オイカワ *Zacco platypus*	13.0	49	6.59	11.6	77	4.7	26.5	208	55.0	1953. 5 厚木 Atsugi
	13.1	46	3.79	29.0	110	3.0	21.3	542	115.2	〃 〃
	12.1	40	8.57	9.4	81	4.4	22.0	288	63.3	1953. 5 厚木 Atsugi
	12.0	39	6.76	6.96	47	5.2	18.9	262	49.4	〃 〃

able 2. 同時に同漁場で漁獲され，大きさの異なる魚類のA含量

Vitamin A content in fishes in various size from the same sources.

魚種 Species	体長 Body length cm	体重 Body weight g	性別 Sex	肉 Meat: 含油量 Oil content %	肉 Meat: 油中A Vitamin A in oil I.U./g	肉 Meat: 100g中A Vitamin A in 100g of meat I.U.	肝臓 Liver: 重量 Weight g	肝臓 Liver: 含油量 Oil content %	肝臓 Liver: 油中A Vitamin A in oil I.U./g	肝臓 Liver: 組織1g中A Vitamin A in tissue I.U./g	備考 Remarks
ヘダイ *Sparus aries*	20.0	330		0.635	23.7	15	4.7	4.59	4,300	197	1954. 10. 5 真鶴 Manazuru
	14.5	125		2.70	10.4	28	2.0	5.10	1,610	82	〃 〃
メジナ *Girella punctata*	37.5	1,560		6.11	20.5	125	11.2	4.42	230,000	11,700	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	26.0	555		6.38	39.4	252	15.0	6.82	5,590	375	〃
イサキ *Parapristipoma trilineatum*	34.5	1,055	♀	6.20	18.2	116	16.5	4.33	4,900	21.2	1951. 6. 真鶴 Manazuru
	24.2	284	♀	5.83	25.9	156	4.1	2.78	1,360	37.8	〃 〃 〃
マハタ *Epinephelus septemfasciatus*	29.3	745		3.64	63.0	230	7.6	12.10	2,230	27.0	1951. 10. 大磯 Ôiso
	21.7	305		1.01	55.0	56	4.0	3.95	4,940	19.5	〃 〃 〃
スズキ *Lateorabrax japonicus*	54.0	2,180		0.98	200.0	180	16.5	4.16	126,000	5,240	1951. 11. 築地市場 Tsukiji
	38.0	750		0.69	283.0	195	5.5	5.15	12,450	642	〃 〃 〃
	21.0	157		2.25	79.2	178	3.1	1.80	2,210	39.7	〃 〃 〃
マサバ *Pneumatophorus japonicus*	37.5	720	♂	0.23	63.9	15	11.5	1.30	—	—	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	27.6	290		3.60	5.5	20	3.1	5.06	28,200	1,440	〃 〃 〃
	18.0	80		1.85	15.7	29	3.5	5.37	1,730	93	〃 〃 〃
	10.6	13		0.89	54.0	48	0.47	1.74	4,900	85	〃 〃 〃
マルソーダガツオ *Auxis maru*	23.0	204		1.32	21.8	28.8	22.0	2.16	354	7.65	1954. 10. 5. 真鶴 Manazuru
	21.8	166		0.38	32.4	12.3	18.9	1.82	323	5.88	〃 〃 〃
	20.7	124		0.33	25.5	8.4	13.3	1.78	3,960	70.0	〃 〃 〃
ヒラソーダガツオ *Auxis hira*	33.5	785		6.20	12.0	74	12.5	6.10	1,690	103	1951. 10. 大磯 Ôiso
	28.7	458		3.50	10.8	38	9.0	8.30	6,700	556	〃 〃 〃
クロシビカマス *Promethichthys prometheus*	33.6	224		4.15	10.2	41.4	3.4	4.02	7,420	298	1954. 10. 5. 真鶴 Manazuru
	31.9	197		5.70	9.8	56.1	4.7	8.20	5,880	481	〃 〃 〃
	32.0	184		6.40	18.9	121.0	2.8	4.08	6,850	280	〃 〃 〃
	31.3	165		3.58	20.4	73.2	4.2	4.12	9,520	392	〃 〃 〃
	31.2	166		7.36	8.02	59.0	3.5	4.87	6,820	332	〃 〃 〃
	30.7	152		2.14	19.9	40.4	2.7	2.93	6,650	195	〃 〃 〃
	22.4	72		1.59	14.5	33.0	2.4	3.67	1,510	540	〃 〃 〃
	18.7	35		4.96	12.1	59.8	0.65	—	—	62.7	〃 〃 〃
	19.1	34		4.58	22.0	101.0	0.85	—	—	326	〃 〃 〃
	16.8	24		1.33	36.8	48.9	0.65	—	—	47.7	〃 〃 〃
	14.9	16									
マアジ *Trachurus trachurus*	32.5	410		4.70	12.5	59	13.0	15.3	2,280	349	1951. 6. 真鶴 Manazuru
	13.5	58		2.70	12.7	34	—	—	—	—	〃 〃 〃
ムロアジ *Decapterus muroadsi*	22.0	105		4.38	16.8	73.2	2.4	6.0	770	46.1	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	9.6	11.2		1.31	85.5	112	1.9	3.71	950	36.2	〃 〃 〃
	9.4	9.8									
タカベ *Labracoglossa argentiventris*	13.5	61.5		3.05	83.2	253	3.0	16.7	1,270	212	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	9.1～7.4	13.0～8.5		1.74	91.2	158	1.2	2.67	6,800	181	〃 〃 〃
サンマ *Colorabis saira*	31.5	168		13.45	6.55	88.0	12.5	39.2	39.3	15.4	1954. 9.30 築地市場 Tsukiji
	29.9	135		7.63	12.8	97.3	6.5	14.0	246	34.4	〃 〃 〃
	28.2	99		7.77	8.42	65.4	6.0	26.55	126	33.4	〃 〃 〃
	26.8	90.5		4.31	10.9	47.0	6.5	20.85	65.2	13.6	〃 〃 〃
	26.2	76		3.09	15·2	47.0	4.5	10.33	99.5	10.3	〃 〃 〃
	26.0	80.5		4.29	14.9	63.9	4.5	21.0	131	27.5	〃 〃 〃
	26.2	76.5		4.98	9.42	47.0	5.5	18.8	158	29.7	〃 〃 〃
	25.0	77.0		6.33	8.27	52.4	5.5	23.45	56	13.1	〃 〃 〃
	25.2	65.5		1.25	41.0	51.2	4.5	3.61	194	7.0	〃 〃 〃
	30.4	127		2.61	20.1	52.6	9.2	22.8	2.46	50.7	1954. 10.4 築地市場 Tsukiji
	29.0	126		5.36	10.1	54.1	9.3	25.3	2.0	50.6	〃 〃 〃
	29.1	119		4.29	12.45	53.5	8.7	21.0	1.97	41.3	〃 〃 〃
	28.6	113		3.32	13.45	44.7	8.0	13.37	2.16	28.9	〃 〃 〃
	28.5	110		4.59	11.0	50.5	7.0	14.7	2.08	30.6	〃 〃 〃
	26.4	89		—	—	—	5.8	14.95	1.22	18.3	〃 〃 〃
タチウオ *Trichiurus japonicus*	94.2	595		7.72	7.24	56	13.8	6.82	1,710	104.5	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	77.6	234		4.02	11.0	44	3.2	4.42	8,450	375	〃 〃 〃
ヤマトカマス *Sphyraena japonica*	28.4	205	♀	7.15	12.6	90	3.5	8.69	2,740	238	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	22.4	100		4.43	17.0	74	1.8	9.12	3,250	297	〃 〃 〃
	21.0	68		2.32	18.8	44	4.2	5.79	830	48.2	〃 〃 〃
	15.0	26		0.76	102.0	57	0.6	4.83	2,070	100	〃 〃 〃
	13.2	14.7		0.56	84.4	47	1.1	4.07	1,690	68.5	〃 〃 〃
マボラ *Mugil cephalus*	32.5	585		2.82	43	122	10.7	4.06	12,120	452	1951. 10. 築地市場 Tsukiji
	20.0	131		4.27	34	178	3.0	1.2	4,250	51	〃 〃 〃
イシモチ *Sciaena schlegelii*	19.0	141		4.87	10.7	52	3.8	8.54	1,730	147.5	1952. 1. 小名浜 Onahama
	15.0	60		4.90	13.4	63	1.3	9.13	2,280	296	〃 〃 〃
ウミタナゴ *Ditrema temmincki*	17.8	175		0.505	93.5	47	2.6	26.9	144	38.8	1954. 9. 7. 横須賀 Yokosuka
	17.3	159		0.24	87.0	20.9	2.5	17.6	4,070	705	〃 〃 〃
	13.7	82		0.298	152.5	45.5	1.0	9.48	3,460	322	〃 〃 〃
	13.8	78		—	—	—	0.9	17.3	1,900	328	〃 〃 〃
	13.6	79		2.01	18.5	37.2	1.0	14.05	3,000	422	〃 〃 〃
	9.7	12		0.88	137.5	121	0.3	6.1	28.6	1.74	〃 〃 〃
	9.3	11					0.3	6.27	36.1	2.26	〃 〃 〃
ササノハベラ *Pseudolabrus japonicus*	16.6	155	♂	1.76	19.3	34	1.5	4.88	7,950	388	1954. 9. 7. 横須賀 Yokosuka
	11.7	64	♀	3.97	9.35	37.1	1.4	10.73	1,740	187	〃 〃 〃
	10.1	35	♀	1.80	41.2	74	0.5	12.63	1,340	155	〃 〃 〃
ニザダイ *Xesurus scalprum*	35.8	1,290		2.34	18.3	43	34.5	9.05	4,140	373	1952. 2. 八丈島 Hachijô Island
	29.8	770		1.90	21.0	40	13.5	6.60	19,700	1,300	〃 〃 〃
カワハギ *Menacanthus cirrhifer*	17.5	244		0.07	14.3	10	13.4	16.3	470	76.5	1952. 7. 真鶴 Manazuru
	13.2	96		0.29	89.7	26	5.0	30.5	178	54.2	〃 〃 〃
ホウボウ *Cheldonichthys kumu*	33.0	690		0.534	44.9	24	4.6	27.0	630	170	1954. 10. 5. 真鶴 Manazuru
	22.0	190		0.413	67.8	28	3.1	29.1	883	260	〃 〃 〃

同魚種に於て **Between liver and meat of same species ;**	
Ⅰ. 肝臓のA含量の多い方が肉のA含量の多いもの The richer the vitamin A content in liver, the richer the vitamin A content in meat.	9
Ⅱ. 肝臓のA含量の多い方が肉のA含量の少いもの The richer the vitamin A content in liver, the poorer the vitamin A content in meat.	10
Ⅲ. どちらにも属するもの Belonging to either type.	4
同魚種に於て **Between oil and meat of same species ;**	
Ⅰ. 肉の含油量の多い方が肉のA含量が多いもの The higher the oil content in meat, the richer the vitamin A content in meat.	14
Ⅱ. 肉の含油量の多い方が肉のA含量が少いもの The higher the oil content in meat, the poorer the vitamin A content in meat.	4
Ⅲ. どちらにも属するもの Belonging to either type.	5

即ち肉のA含量と魚体の大小との関係については，大の方が小よりも肉のA含量が高いものと，小の方が大よりも肉のA含量が高いものとの例がほゞ同数であり，魚体の大小と肉のA含量との間には直接的関係が認められない。

又肉のA含量と肝臓のA含量との関係については，肝臓のA含量の高い方が肉のA含量も高いものと，肝臓のA含量の低い方が肉のA含量が高いものとの例がほゞ同数であつて，前項の，同大の試料魚に於て見られた如き関係は此の場合には認められなかつた。

肉のA含量と肉の含油量との関係については，個体の大小に拘らず含油量の高い個体の方が，肉のA含量も高い場合が，然らざる場合よりも遥かに多く，肉のA含量は多くの場合，含油量に伴つて変化する事が知られる。

肝臓のA含量は第2表に掲げた魚類に於ては大型魚（高年魚）ほど高いもの 15 例，その反対のもの 4 例，どちらにも属するもの 3 例で，肝臓のA含量は魚の年令と共に大となる傾向が見られる。

3. 同漁場に於て漁獲された漁期の異る試料魚の肉のA含量の差異。 漁場が同じで漁獲時期の異る数種

Table 5. 漁場が同じで漁期の異る種々の魚肉のA含量

Vitamin A content in fish meat caught at the same locality in different seasons.

魚種 Species	* 漁場及漁期 Locality and season of catch	体重 Body weight g	肉 100g 中のA Vitamin A in 100g of meat I. U.
マサバ *Pneumatophorus japonicus*	真鶴 1951. 6.	318	59
	〃 〃 〃	145	53
	〃 〃 〃		31
	真鶴 1952. 7.	720～13	15～48
クロシビカマス *Promethichthys prometheus*	真鶴 1953. 8.	230	39
	真鶴 1954. 10.	224～34	41.4～101
ヤマトカマス *Sphyraena japonica*	真鶴 1954. 10.	225	58.2
	〃 〃 〃	118	35.3
	〃 〃 〃	90	30.1
	〃 〃 〃	85	15.7
	真鶴 1951. 6.	158	30
	〃 〃 〃	152	70
	真鶴 1952. 7.	205～14.7	90～47
ウミタナゴ *Ditrema temmincki*	真鶴 1952. 7.	160	34
	〃 〃 〃	70	124
	真鶴 1954. 9.	175～79	47～37.2
カワハギ *Monacanthus cirrhifer*	真鶴 1951. 6.	225	12
	真鶴 1952. 7.	244～96	10～26
ホウボウ *Chelidonichthys kumu*	真鶴 1952. 7.	1,120	59
	真鶴 1954. 10.	690～190	24～28

* All the sample were landed at Manazuru

の試料につき肉のA含量を測定した結果を第5表に示す。

本実験の範囲では各個体間の肉のA含量の差異は前項の同漁場で同時に漁獲した試料の場合とほぼ同程度であつて漁獲時期による特別な差異は認められなかつた。

4. **漁場及び漁期の異る試料魚の肉のA含量の差異。** いろいろな時期に各地の漁場で漁獲された，ヒラメ，カツオについての肉のA含量の測定結果を第6表に示す。

Table 6. 漁場及漁期の異る魚のA含量

Vitamin A content in fishes made available in various localities and seasons.

魚種 Species	漁場及漁期 Locality and season of catch	体長 Body length cm	体重 Body weight g	肉 Meat: 含油量 Oil content%	肉 Meat: 油中A Vitamin A in oil I. U. /g	肉 Meat: 100g中A Vitamin A in 100 g of meat I. U.	肝臓 Liver: 重量 Weight g	肝臓 Liver: 含油量 Oil content%	肝臓 Liver: 油中A Vitamin A in oil I. U. /g	組織1g中A Vitamin A in tissue I. U. /g
ヒラメ *Paralichthys olivaceus*	塩釜 Shiogama 1951,8	58.0	2,690	1.19	142.8	170	29.0	10.4	52,800	5,490
		36.0	700	1.00	220.0	220	8.0	22.0	14,200	3,120
	小名浜 Onahama 1952.1.	30.0	577	0.95	73.2	69.5	8.2	12.3	1,890	232
	真鶴 Manazuru 1954.3.	64.0	4,830	4.09	19.6	80	91	24.5	26,300	6,450
		34.5	550	0.234	633.0	148	—	37.0	247	101
カツオ *Katsuwonus pelamis*	築地 Tsukiji 1951.7.	43.0	1,950	2.89	15.9	46	23.5	6.66	17,700	1,180
	沼津 Numazu 1952.8.	31.8	670	1.46	15.7	23	7.1	3.2	10,050	305
		59.0	6,000	0.78	33.8	26	—	—	—	—

実験例が少いがこの場合も前項と同様，肉のA含量には大きな差異は認められなかつた。

5. **肉の含油量とその油のA濃度との関係。** クロシビカマス，ウミタナゴ，ヤマトカマス，サンマについては夫々漁場及び漁期を同じくする数尾づゝの試料について測定を行つたが，それらの肉の含油量(F)とその油のA濃度(A)との関係を図示すれば1図の如くになる。

即ち両者の関係は

$$\log A + a \log F = b$$

或は

$$AF^{a} = K \text{(常数)}$$

にて表わされ，第1報に述べた同一魚体に於ける体各部の肉の含油量とその油のA濃度との間に成立しているものと同じ関係が，生育環境をほゞ等しくする多数の魚体間にも成立している事が知られる。

考　　察

本実験の結果，同種の魚に於ては肉のA含量は通常，年令，漁期，漁場等には大なる関係はなく，肝臓の場合に比して遙かに個体による差異が少いことが知られた。肝臓はAに関しては主として貯蔵器官であつて生長，産卵，餌料其の他の生活環境の変化によつて著しくAの量が変動することは既に明かにされているが多くの魚に於ては肉のA含量は個体差が比較的小なること，年令との間に一定の関係が見出し難いこと等より，Aは肉中には主として生活機能を営むための必要量だけが存在していると考える。勿論，ウナギ，カワヤツメ等の如くAを主として肉中に貯蔵する魚類は別である。

以上の如く，肉中のA含量は個体差が比較的小さいが，その差を生ずる原因は何であろうか。第1表に示した如き，条件がほゞ同様な試料についても肉のA含量は 1.3〜2.4 倍程度の差異が見られたが，この場合は肝臓のA含量の高い個体が，肉のA含量も稍々高い傾向が見られる。しかしこれらの魚種の各々について肉と肝臓のA含量を体重 1kg 当りに換算し，それぞれの組毎に差を取つて見ると第7表の様で，肝臓中のA含量の差の大きい時に必ずしも肉のA含量の差が大きくはなく，同魚種に於ても両者の間に定量的な関係は見出し難い。

同種の魚類に於ては，大さの異る個体間に於ても，肉の含油量とその油のA濃度との間に一定の関係が成

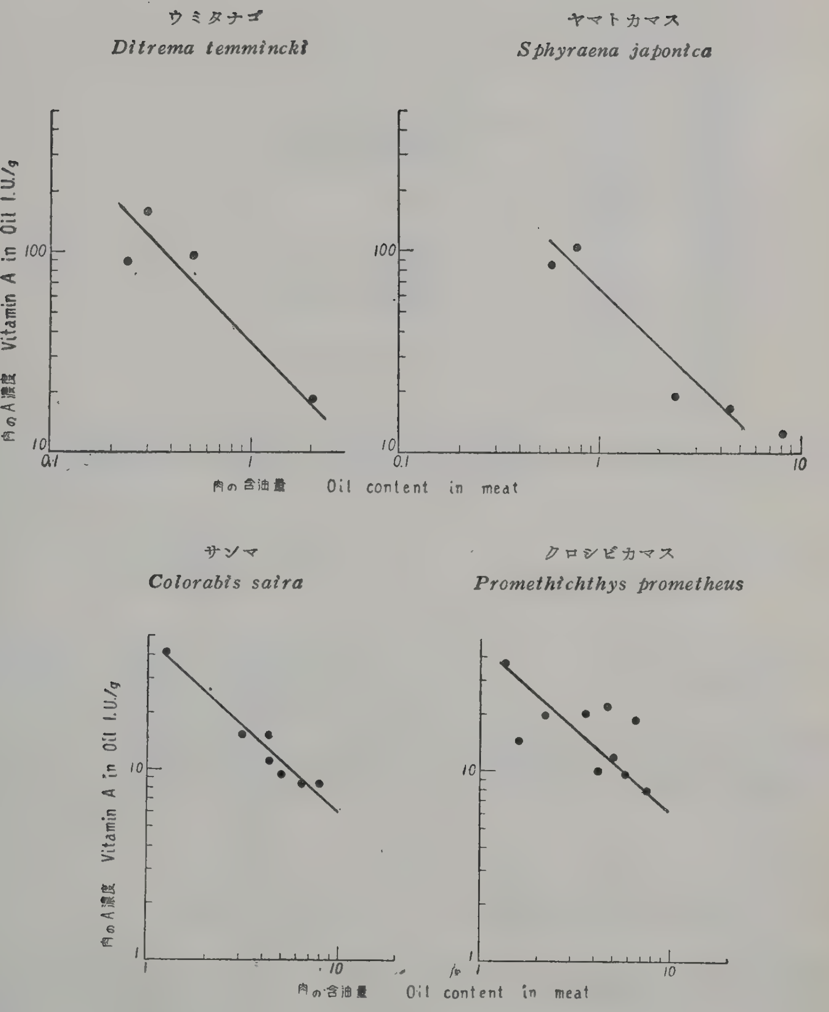


Fig 1. 種々の魚に於ける肉の含油量とその油のＡ濃度との関係

Relation between the oil content and the vitamin A concentration in the oil of fish meat.

立するいうことは第１図に示した如くであるが，このことは，もし，肉には内臓から一定濃度のＡを含んだ油が体液によつて補給せられ同魚種に於ては年令を異にしても補給される油のＡ濃度には差がないと仮定すれば，第１報に於て述べたと同様にして説明が出来るがこの仮定の当否については続報にゆずる事とする。第１報に於ては $AF^a=K$(常数) の a の値について，$a<1$ なる魚体に於ては，含油量の高い部位程，肉のＡ含量が高くなり，$a=1$ なる魚体に於ては含油量の如何に拘らず各部位の肉のＡ含量は一定であると

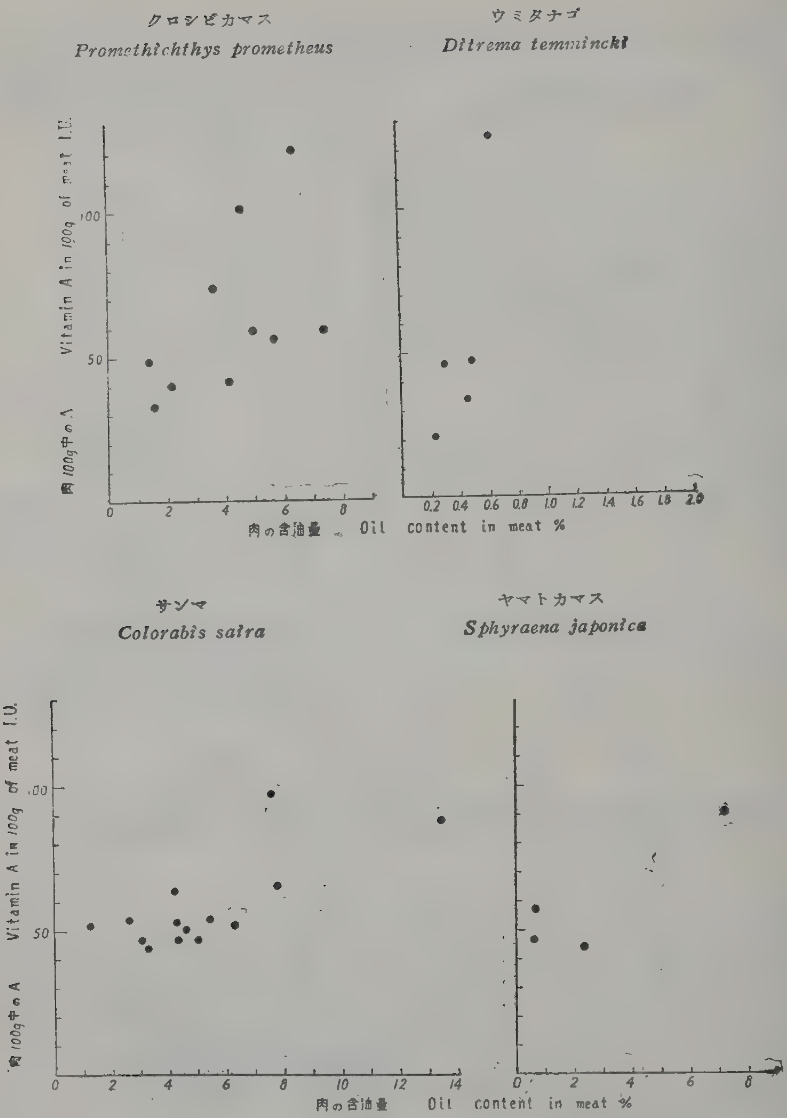


Fig. 2. 肉のA含量と肉の含油量との関係

Relation between the vitamin A content and the oil content in meat of fishes.

Table 7. 第1表の試料魚の各組に於ける肉と肝臓とのA含量の差(体重 1kg 当)
Difference of vitamin A per kg of fish between tge similar samples as in Table 1..

		Meat I.U.	Liver I.U.
マサバ	*Pneumatophorus japonicus*	320	4560
サンマ	*Colorabis saira*	0～38	330～1370
〃	〃	11	60
シマイサキ	*Therapon oxyrhynchus*	80	9800
クロシビカマス	*Promethichthys prometheus*	200	300
アユ	*Plecoglossus altivelis*	90	480
〃	〃	130	3870
〃	〃	840	390
〃	〃	80	110
〃	〃	78	200
〃	〃	140	−200*
ウグイ	*Tribolodon hakonensis*	15	−120*
ヘラブナ	*Carassius carassius*	210	2130
マブナ	*Carassius auratus*	88	30
〃	〃	90	5740
〃	〃	90	1420
オイカワ	*Zacco platypus*	320	2180
〃	〃	260	390

* 肉のA含量の多い方が肝臓のA含量が少なかつたもの。

述べたが，本報の実験例のクロシビカマス，サンマ，ヤマトカマス，ウミタナゴについてこの関係を調べて見ると第2図の如くなる。

試料の数が少いため，あまり明瞭ではないが，クロシビカマス，サンマ，ヤマトカマスに於ては $a<1$，ウミタナゴは $a=1$ の例に相当すると考えられる。

摘　　要

諸種の魚類につき肉と肝臓とのA含量を測定し次の結果を得た。

1. 同漁場で同時に漁獲され，且つ同性で体重，年令も等しい，シマイサキ，サンマ，ウミタナゴ，マサバ，アユ，フナに於ける肉のA含量の個体差は 1.3～2.4 倍であつた。

2. 同時に同漁場で漁獲された，種々の大さの同種の魚に於ては，肝臓のA含量の個体差は数倍から数百倍に及ぶが，肉のA含量の個体差は通常1～3倍程度であつて差の最大の場合でも6倍以下であつた。

3. 同時に同漁場で漁獲された同種の魚に於ては，魚体の大さに拘らず，肉の含油量の高い個体が肉のA含量も稍多い傾向がある。

4. 同漁場で漁獲された漁期の異る数種の魚に於ても肉のA含量の差異は 2.2～6.0 倍で前項迄の結果と同程度であつた。

5. ヒラメ，カツオに於ては漁場，漁期の異るものの肉のA含量の個体差は 2.0～3.2 倍程度で，やはり大きな差異はなかつた。

6. 漁場及び漁期を夫々同じくするクロシビカマス，サンマ，ウミタナゴ，ヤマトカマスの各個体の肉の含油量(F)とその油のA濃度(A)との間には，前報の同一魚体中の体各部の肉の含油量とその油のA濃度との間に見られたものと同じ関係

$$\log A + a \log F = b$$

が成立する事を認めた。

本研究に当り終始御指導をいたゞいた東秀雄先生に厚く御礼申上げます。

文　　献

1) 平尾，山田，菊地；日本水産学会誌 19，1047 (1954).
　　同上　；　〃　20，736 (1955).
2) 東，平尾，清水，山田，菊地；日本水産学会誌 18，310 (1953).

水産皮革の理化学的研究—X.
サメ皮蛋白質について

高橋豊雄・横山和吉
（東海区水産研究所）

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marin Animals—X.
On the Protein in Shark Skin

Toyo-o TAKAHASHI and Wakichi YOKOYAMA

The Protein composition of skin which gives an essential knowledge for manufacturing leather or gelatin was studied with the shark skin, an important raw material of marine leather and fish gelatin. The results obtained can be summarized as follows;

(1) The content of globulin-alubumin fraction in the skin of great blue shark (*Prionace-Glaucus*) was somewhat higher than in cattle hide (Cf. Table 1). The mucoid content in the shark was 5—6 times as larg as that in cattle hide (Cf. Table 2).

(2) The content of elastin in shark skin was higher than in cattle hide. The elastin content in the dorsal skin of great blue shark was smaller than in the ventral skin. The amount of elastin contained in the dorsal and ventral skins of blue shark (*Isuropsis Glauca*) was the same as in the ventral skins of great blue shark (Cf. Table 2 and 3).

(3) It has been found that collagen contained in shark skin is only about 13 % in contrast with that of cattle hide which was reported to be nearly 30 % of the green hide. For this reason, shark skin is not supposed very suitable as a material for manufacturing gelatin.

(4) The amino acid composition of collagen could not be found different between great blue shark and terrestial animal hide when tested after Van Slyke's method (Cf. Table 6). It seems thdt the two dimensional chromatography of hydrolyzate of shark skin-collagen presented the pattern resemble to that of cattle hide-gelatin (Cf. Figure 3).

序　　論

魚皮と獣皮とにてはその性質に種々差異があり，著者等が第9報[1]に報告したように酸による皮の膨潤及び溶解は皮の組織学的構造の差異に関係がありそうに思われるが，皮の主要成分である蛋白質が魚皮と獣皮との性質の差異に関係することも考えられる。即ち第8報[2]に記載した皮の耐熱性の差異は主として皮の主要蛋白質であるコラーゲンの性質によるものと考えられており，皮の酵素による消化，鞣剤との反応等も同様である[3]。又皮を原料として作られるゼラチンの性質もその原料皮コラーゲンの性質が関係することが考えられ，[4],[5],[6]尚その際のゼラチン収量は当然原料皮のコラーゲン含有量に左右される。

一方皮の夾雑蛋白質とも云うべきエラスチン，アルブミン等がその皮から作られる革の性質に影響することは広く知られていることで，又アルブミン等がゼラチンに混在するとその品質が低下する。

1953 年 8 月 24 日受理 （印刷費負担） 東海区水産研究所業績 B 第 161 号

このように皮の蛋白質は製革及び製膠上重要なものであるので，牛皮についてはその主要構成分であるコラーゲンのアミノ酸組成[7][8]，ミセル構造[9],[10],[11]，分子構造[11],[12]等種々研究されている。然し獣皮の蛋白組成（コラーゲン及び夾雑蛋白）という点についての研究[13],[14]は少いようである。魚皮コラーゲンについてはミセル構造についての極く僅かな知見[19],[10]やアミノ酸組成についての二，三の結果[15],[16]があるのみであり，又魚皮の蛋白組成については山田[17]がアオザメ皮について報告しているのみである。

著者等は前記のように製革及び製膠に対し重要な指示を与えると考えられる蛋白組成を水産皮革の重要原皮であるサメ皮について検し，なお魚皮と獣皮との性質の差異を知るのに役立つかとも考え魚皮コラーゲンのアミノ酸組成について二，三調べた。

実験の部

実験（I） サメ皮のグロブリン，アルブミン及びムコイド含有量

グロブリン，アルブミン及びムコイド等は生皮中少量存在するものではあるが，これらを含んだまゝ皮を鞣製すると革の柔軟性が害され，又皮がゼラチン原料として用いられる時にはゼラチンに濁りを生じ，その品質を低下させる原因ともなる。

著者等はサメ皮の蛋白質を McLaughlin, Theis,[13]及び Marriot[18]の方法に準拠して第1図のように分別定量した。

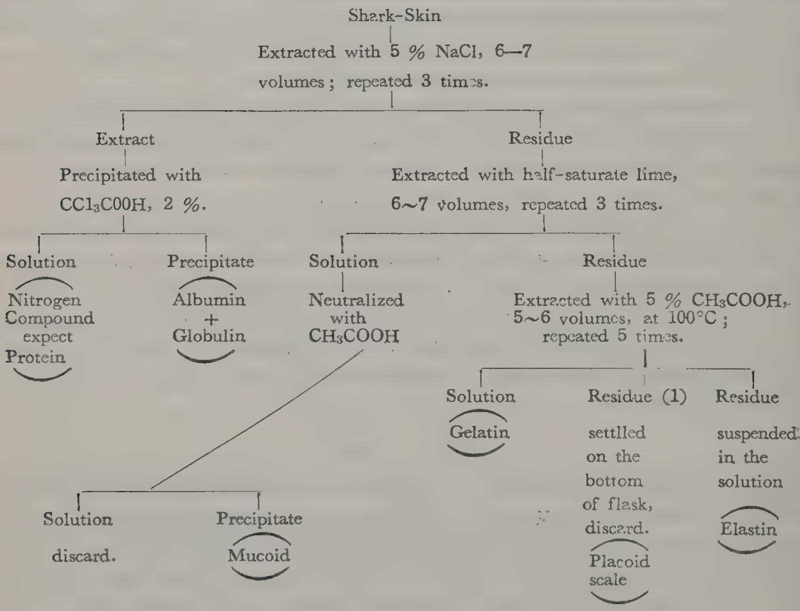


Fig 1. Diagram of procedure for separating the different proteins from shark skin.

この方法にてサメ皮を分析すると残渣1に表皮及び鱗中のケラチン質が混在してくるが，この残渣は量も少く，又魚皮は極く薄いもので，サメ皮の製革上余り問題もないと思われるので，ケラチンの定量は行わなかつた。

グロブリン，アルブミン

表記の如く試料の生皮 35g を 5% 食塩水 400c.c. を用いて乳鉢中にて圧搾抽出し，抽出液を濾過し，その濾液の一定量について全窒素を定量し，他の一定量に三塩化醋酸を 2%になるように加え加熱し，冷却後濾過し，濾液中の窒素を定量した。斯くして得た全窒素と非蛋白態窒素との差からアルブミン+グロブリン態窒素を求め，これに 6.25 を乗じてアルブミン+グロブリン量とした。なお上記と同様の操作を 3 回行つた。3 回目には極く少量の窒素が抽出されるのみであつた。このようにして得た窒素化合物の抽出 3 回の総和を表記すると第 2 表の如くである。試料としてはヨシキリザメ (*Prionce glaucus*) 皮*を用い，その頭，背，尾及び腹の 4 部位について分析した。

Table 1. Content of globulin — albumin fraction in the skin of great blue shark*

Kinds of skins	N of globluin — albumin fraction	
	% of green skin	% of dry skin without placoied scales**
Head skin	0.12 (0.75)***	0.90 (5.62)
Dorsal skin	0.17 (1.05)	1.13 (7.07)
Tail skin	0.11 (0.67)	0.76 (4.75)
Ventral skin	0.13 (0.81)	0.90 (5.62)

* Water content of skin employed : head skin 81.1%, dorsal skin 80.4%, tail skin 80.3%, ventral skin 80.5%.
** The amount of the scales is shown in Table 7.
*** Figures in parentheses show globulin and albumin content (N×6.25)

表記の如く 5% 食塩水にてヨシキリザメ皮から抽出される全窒素量は生皮に対し 0.86~1.13%，脱鱗無水物**に対し 6.03~7.97 %であり，部位による差異は余り認められない。

グロブリン・アルブミン態窒素は生皮に対し 0.11~0.17% で，脱鱗無水物に対し 0.76~1.13 %でこれ等も部位による差異は余りないようである。なおこれ等の結果から換算したグロブリン・アルブミン量は脱鱗無水物に対し，4.75~7.07%で，成牛皮の真皮の無水物に於ける1.0~1.8%よりも多く，児牛皮の5.12%(13)と大約同様である。

非蛋白態窒素は 5% 食塩水に溶出した窒素の 84~88% をしめ，これは尿素，アンモニア，クレアチン，クレアチニン等に由来するものであろう。三塩化醋酸にて除蛋白した抽出液にキサントヒドロールを加えて沈澱を作り，この窒素量を側定して尿素態窒素を定量せるに，皮に対し 0.3~0.4% (脱鱗無水物に対し 1.5~2.0%) の値が得られた。なお揮発性塩基窒素は生皮中 0.08~0.16% 存在していた。

ムコイド

前記の如く食塩水にて抽出した残渣を半飽和の水酸化カルシユーム溶液 400c.c. にて抽出し，抽出液の一部にて全窒素量を測定し，他の一部を醋酸にて中和，濾過しその濾液中の窒素を測定し，前者と後者との差をムコイド態窒素とした。このような抽出を 3 回行うとムコイド態窒素の抽出は殆んど完了した。3 回の抽出の合計の値を表記すると第 2 表の如くである。

Table 2. Mucoid content in the skin of great blue shark

Kinds of skins	Mucoid-N	
	% of green skin	% of dry skin without placoid scales
Head skin	0.05 (0.34)	0.35 (2.35)
Dorsal skin	0.04 (0.28)	0.27 (1.93)
Tail skin	0.05 (0.34)	0.35 (2.35)
Ventral skin	0.06 (0.41)	0.41 (2.83)

Figures in parentheses show mucoid content (N×6.89).

* 使用したヨシキリザメ皮の水分　頭皮，81.1%　背皮，80.4%　尾皮，80.2%　腹皮，80.5 %
** 脱鱗無水物に対する% ;　皮の水分及び鱗の附着量（第 7 表参照）を考慮して生皮に於ける含有量から換算したもので，ヨシキリザメ皮等は脂肪含有量が非常に少から，牛皮等の真皮の無脂肪無水物に相当すると考えられる。

表記の如く前記4部分とも大約同様で生皮に対し 0.28～0.41％，脱鱗無水物に対し 1.9～2.8％である。牛皮のムコイド含有量（真皮の無水物に対し）は 0.3～0.6％ で[13]，これに比しサメ皮のムコイド含有量は遙かに大である。

上記の結果によるとヨシキリザメ皮は児牛皮と大約同程度のグロブリン＋アルブミンを含有し，又ムコイドは牛皮の約 5～6 倍を含有している。従つてこれら夾雑蛋白質を除去する目的にて石灰漬を行う場合には牛皮と同程度或るいはそれ以上充分に行う必要があるように思はれる。然し第8報に記載したようにサメ皮は石灰漬中には牛皮よりも変性し易いから石灰漬の処理条件を牛皮と別個にする必要がある。即ちサメ皮の石灰漬は比較的低温度にて行い，又短時間に止め，出来るだけコラーゲンの変性を阻止しつゝ，夾雑蛋白質を除去するよう心掛くべきである。

実験 2. サメ皮のエラスチン含有量

エラスチンは革に強靱性を与えるもので，皮の蛋白質の内でコラーゲンに次いで有用なものと一般に考えられている。然しその含有量が非常に少いという理由から，その有用性に対して反対する人もある。

一般に魚皮は獣皮よりもエラスチンを多量に含有しているといわれているが，サメ皮のエラスチン含有量については山田[17]の報告（アオザメ皮のエラスチン態窒素…0.3～1.44％）があるのみである。

著者等はヨシキリザメ皮及びアオザメ（*Isuropsis glaucas*）皮の数試料について背皮及び腹皮のエラスチン含有量を検した。

分析は MARRIOTT の方法に準拠して行つた。即ち比較的多量（100～300g）の生皮を 5～10 倍量の 5％醋酸溶液と共に数時間煮沸し，次に不溶性部分を新しい醋酸溶液に移し，この際皮から剝離した鱗はこの不溶性部分（エラスチン）から取り除いた。再び煮沸し，上記のように処理する。このような操作を 4～5回行つた後抽出残渣を室温にて 5％ 硫化ソーダ溶液にて処理し次に水にて充分洗ひ，アルコールにて脱水し，エーテルにて処理し，乾燥秤量し，これを以つてエラスチン量とした。得た結果は第3表の如くである。

Table 3. Elastin content in shark skin

Sample	Elastin content in dorsal skin		Elastin content in ventral skin	
	% of green skin	% of dry skin leavad out scale	% of green skin	% of dry skin without scales
Skin of great blue shark*	0.10	0.69	0.23	1.58
	0.08	0.55	0.39	2.74
	0.09	0.62	0.13	0.90
	0.09	0.62	0.20	1.38
Skin of bonito shark**	0.29	2.33	0.16	1.28
	0.23	1.84	0.27	2.16
	0.41	3.28	0.16	1.28

* Water content in the skin of great blue shark ; 75～80 %
** 〃 〃 bonit shark ; 70～55 %

次に実験1に於てアルブミン・グロブリン及びムコイドを抽出定量した残渣を 5％ 醋酸 300c.c. にて 3回熱抽出し，この熱抽出残渣を水洗し，これの窒素量を定量しエラスチン態窒素を求めた。

得た結果は第4表の如くである。

第 3，4 表に表示したようにサメ皮のエラスチン含有量は生皮に対し 0.08～0.4％，脱鱗無水物に対しては 0.2～2.9％ にて MCLAUGHLIN 等[13]の分析結果による牛皮の真皮のエラスチン含有量 0.05～0.87％（無水物に対し）に比しやゝ多い。なおヨシキリザメ皮に於ては背皮は腹皮に比しエラスチン含有量が遙に少い

Table 4. Elastin-N in the skin of great blue shark

Kinds of skins	Elastin-N	
	% of green skin	% of dry skin without scales
Head skin	0.013 (0.08)	0.09 (0.54)
Dorsal skin	0.007 (0.04)	0.05 (0.34)
Tail skin	0.013 (0.08)	0.08 (0.45)
Ventral skin	0.034 (0.20)	0.23 (1.37)

Figures in parentheses show the elastin content (N×5.95).

がアオザメ皮については背皮と腹皮との間に余り差異がなく，両者共ヨシキリザメ皮の腹皮と大約同程度である。

サメ皮エラスチンのアミノ酸組成

前記のように生皮を醋酸にて抽出してコラーゲンを除去し，硫化ソーダにてケラチンを除去したエラスチンの一試料（アオザメ皮）を硫酸にて加水分解しバリタにて中和し，この加水分解生成物のアミノ酸をペーパークロマトグラフ法にて検した（実験 4，b 参照）得た展開図は第2図の如くである。なおこのエラスチンの全窒素は 16.8% である。

実験 3. サメ皮のコーラゲン含有量

ヨシキリザメ皮の頭皮及び尾皮についてコーラゲンを定量した。其の分析方法は第1表の如くアルブミン+グロブリン，ムコイド等を抽出した残渣を 5～10 倍量の 5% 醋酸液にて数回熱抽出し（抽出時間合計 25～30 時間）その抽出液を合して，これの窒素量を測定してコラーゲンNとなし，これに 5.62 を乗じてコラーゲンとした。得た結果は第5表の如くである

表記の如くヨシキリザメ生皮はコラーゲンを 13% 程度含有するのみで，牛皮の 31～33% に比し遙に少いがこれはヨシキリザメ皮の水分含有量の多いという事に主として原因し，又鱗が比較的多量に附着しているという事及び夾雑蛋白質が牛皮よりも多いという事等も多少原因するものと考えられる。

斯くしてサメ皮は牛皮に比してゼラチンの収量が悪くこの点ゼラチン原料として不利である。

実験 4. サメ皮コラーゲンのアミノ酸組成

牛皮コラーゲンのアミノ酸組成については詳細な研究が行われ，DAKIN[19]，BRAYBROOKS[20]等により牛皮ゼラチンのアミノ酸組成が報告され，なお最近 CHIBNALL[7] 及び BOWES 及び KENTEN[8]はコラーゲンのアミノ酸組成について報告している。

魚皮ゼラチンのアミノ酸組成については久しい以前に

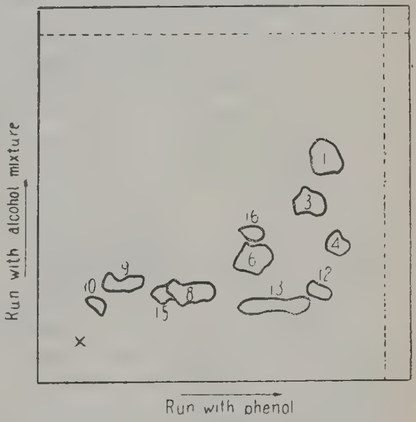


Fig 2. Two-dimensional chromatogram of hydrolyzaet of shark skin-elastin. First run with phenol (Saturated with 0. 1% NH_4OH solution) : second run with the mixture of buthanol, ethanol and water (4:5:1.5). ×; Hydrolyzate put on here, ……; Solvent ascended to here. Numerals in Figs. 2 to 4 denote as follows;
1. Leucine 2. Phenylalaine 3. Valine 4. Prolne 5. Oxyproline 6. Alanine 7. Threonine 8. Glycine 9. Glutamic acid 10. Aspartic acid 11～13. Di-amino acid

Table 5. Collagen-N in the skin of great blue shark

Kinds of skins	Collagen-N	
	% of green skin	% of dry skin without scales
Head skin	2.39 (1.31)	16.1 (90.7)
Tail skin	2.26 (12.7)	15.6 (87.9)

Figures in parentheses show the collagen content(N×5.62).

奥田[15]が一結果を報告し，STIASNY[16]が VAN SLYKE 法による一分析結果を報告しているが，これ等の結果からは魚皮コラーゲンと獣皮コラーゲンとの間にアミノ酸組成に差異があるとは云えないように思われる。最近NEUMAN 等[21] [22] がタラ皮コラーゲンについ

てアミノ酸組成を調べ，タラ皮コラーゲンと牛皮コラーゲンとにて，二，三のアミノ酸含有量に差異のあることを見ている。

前記の如く魚皮と獣皮との性質の差異がコラーゲンに関係する(3)といわれているが，これが事実であるならば両者のコラーゲンのアミノ酸組成に差異がありそうにも思われる。著者等はこの点を確めたいと考えて本実験を行つた。

a). Van Slyke 法による分析

先ず Van Slyke 法にてヨシキリザメ皮コラーゲンのアミノ酸組成を検した。サメ皮コラーゲンの調製法は次の如くである。サメ皮から鱗の附着した上層と肉質部に近い下層とを切り去り，中層を 1 % 水酸化カルシューム懸濁液中に 2 日間浸漬し，流水中にて水洗後 1 % 硫酸アンモニウム溶液にて残存する石灰分を除去し，再び水洗した。このようにアルブミン等を除去した真肉を 0.2% の Oropon 溶液(膵臓酵素製剤）に 30°C にて 1 日間浸漬しエラスチンを除去し，サメ皮コラーゲンを調製した。

上記の如く調製したサメ皮コラーゲンの 2 試料及び兎皮コラーゲン（調製法はサメ皮に準ず）のアミノ酸組成を Van Slyke 法にて分析した結果は第 6 表の如くである。

Table 6. Analyses of collagen (N as of protein-N)

Kinds of nitrogen \ Sample	Shark skin-collagen Sample-1	Shark skin-collagen Sample-2	Rabbit skin-collagen	Cow hide-gelatin*
Ammonia-N	3.47	2.72	3.64	2.90
Humin-N	0.48	0.63	0.22	0.59
Amino-N in monoamino acid	55.9	54.6	54.6	56.84
Non-amino-N 〃 〃	14.1	14.7	16.1	15.63
Alginine-N	16.1	15.7	15.4	13.9
Hystidine-N	2.8	2.1	2.9	2.1
Lysine-N	6.2	7.2	8.2	7.97

* After Stiasny

表記の如く著者等の分析したサメ皮コラーゲンと兎皮コラーゲンとの間にはアミノ酸組成に殆んど差異が認められず，又これらの結果は Stiasny の牛皮ゼラチンについての結果及び Bowes 等の牛皮コラーゲンのヂアミノ酸についての結果と大約一致している。従つてサメ皮コラーゲンのアミノ酸組成は牛皮コラーゲンのそれと大約同様であり，ヂアミノ酸の種類及び含有量は殆んど同様のようである。

b) ペーパークロマトグラフ法による分析

次にサメ皮コラーゲンのモノアミノ酸の種類を牛皮コラーゲンのそれと比較したいと考え，ペーパークロマトグラフ法にて定性的試験を行つた。

前記の如く精製したサメ皮の真皮を 33% 硫酸にて 24 時間加水分解しバリタにて中和し，濾過，濃縮しこれを用いてペーパークロマトグラフ法にて展開図を作り，アミノ酸の種類を検した。一次元の展開にはフエノールの水飽和液（0.1% のアンモニヤを含有）二次元にはブタノール，エタノール，水の混合液（4:1:1.5）を用いた。発色には 0.2% ニンヒドリンのブタノール溶液を用いた。

得た展開図を模写すると第 3 図 A の如くである。

著者等の実験の不手際のためヂアミノ酸は不明瞭であつたが，モノアミノ酸の結果は成田(23)及び石井(1950）が牛皮ゼラチンについて報告したものと殆んど同様である。即ち両氏等の場合と同様著者等の場合にもロイシン，バリン，アラニン，グリシン，トレオニン，オキシプロリン等が明に認められた。なおセリン，フエニールアラニンの存在はやゝ不明瞭であつた。

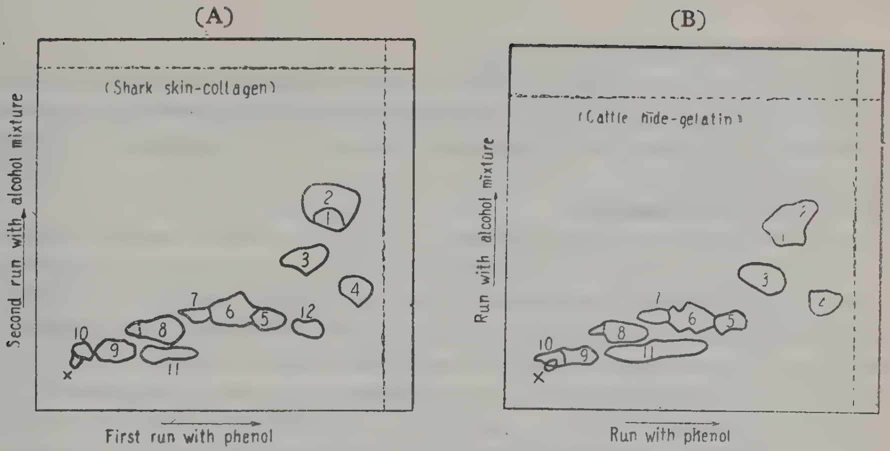


Fig 3. Two-dimensional chromatogram of hydrolyzates of shark skin-collagen and cattle hide-gelatin. × ; Hydrolyzate put on here, …… ; Solvent ascended to here.

なお著者等も牛皮ゼラチンについて同様にアミノ酸の展開図（第3図B）を作つたが，サメ皮コラーゲンについての著者等の結果及び成田等の牛皮ゼラチンの結果と大約同様である。

前二実験の結果，即ち Van Slyke 法による窒素の分布及びペーパークロマトグラフ法によるアミノ酸の種類からはサメ皮コラーゲンのアミノ酸は牛皮コラーゲンのそれと大約差異がなさそうに思われる。

c） サメ皮コラーゲンの熱水易溶性部分と難溶性部分とのアミノ酸組成の比較

絹糸蛋白のフイブロインはその非結晶部分と結晶部分とにてアミノ酸組成を異にし，このフイブロインを hypobromit にて溶解すると非結晶部分のみが溶解するとの事である.[24]

コラーゲンを熱水にて処理する際にその一部は比較的低温にて抽出しうるが，なお一方高温度にて初めて溶出しうるものもある。此等の間にフイブロインの場合のようにアミノ酸組成に差異があるか否かを検し，上記の如く一試料中に熱水に対し易溶性な部分と難溶性な部分とがある理由，及び牛皮と魚皮との溶解性が異る原因等を知る手掛を得たいと考えた。

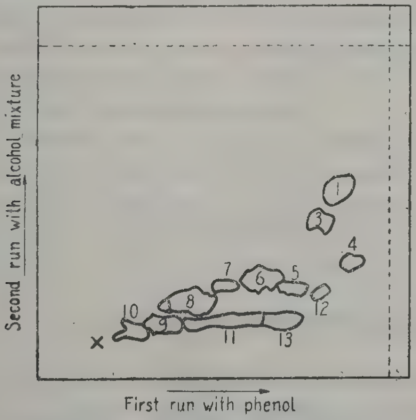


Fig 4. Two-dimensional chromatogram of hydrolyzate of shark skin-gelatin extracted from the skin-collagen at low temperature (63°C for 3 hrs.). × ; Hydrolyzate put on here, …… ; Solvents ascended to here.

精製したサメ皮コラーゲンを 20 倍量の水とともに 63°C にて 4 時間加熱し，この抽出液を濃縮乾固し，約 10 倍量の 33% 硫酸と共にアンプールに密封し，これを 120～130°C の油浴中にて 24 時間加熱し，中和後，これに就いて前同様にペーパークロマトグラフ法にてアミノ酸を検した。得た展開図は第4図の如くである。

上記のような条件にて低温抽出される易溶性部分は極く少量であるので難溶性部分は皮コラーゲン全体と大差ないものと考え，低温抽出部のアミノ酸組成（第4図)を皮コラーゲン全体のアミノ酸組成(第3図A）と比較した。

此等両図によると，前記両者のアミノ酸組成には差異を認める事が出来ず，酸の易溶性部分と難溶性部分

とにてはその化学的組成に差異がなさそうである。

上記の結果からはコラーゲンの熱水に対する溶解度の難易とその化学的組成との関係及び熱水に対する溶解性の異なる魚皮コラーゲンと獣皮コラーゲンとの性質の差異について説明し得る手掛は得られなかつた。

尚著者等は先に述べた NEUMAN 等のタラ皮コラーゲンの結果に着目して，二，三実験したが，その結果は稿を改めて報告する予定である。

実験 5. サメ皮に附着する鱗の割合

著者等は皮の成分含有量についての実験に於て試料としてサメ皮を用いた場合には常に鱗の附いたまゝの皮を用いた。従つて著者等の得た結果を直ちに牛皮等の結果と比較することは出来ないが，これらの結果から一応ながら牛皮等と比較出来るような数値を得たいと考え，サメ皮の鱗の附着量を検し，この量を考慮して前記分析結果から牛皮等の結果と比較しうると思われる数値を算出した。鱗の附着量を測るため皮から楯鱗をはがし取つて，これを直接秤量する事は不可能なので，著者等は楯鱗の灰分量を基礎とし，サメ皮の無水物に於ける灰分量から鱗の附着量を換算した。即ち先に著者等はユメザメの鱗の上方部の無水中の灰分量を測定しその結果を一応報告した[25]が，その後多数の試料について分析し 60.55±0.85% の値が得られた。一方サメ皮の無水物中の灰分量は第7表の如くであり，又鱗を真皮の上層部と共にすきとつたサメ皮の真皮層のみの灰分（無水物中）は僅かに 0.94% で表記の灰分が殆んどすべて鱗の無機物に原因するものである事が判る。

かくて楯鱗の灰分量及びサメ皮の灰分量からサメ皮の鱗の附着量を換算すると第7表の如くになる。

Table 7 Percentages of ash and placoid scale to dry shark skin

	Percentage of ash of dry matter			Percentage of placoid scale to dry matter
		Sample 1	Sample 2	
ヨシキリザメ Great blue shark Prionace glaucus	Head Dorsal Tail Ventral	15.2 15.9 13.3 15.7	22.0 17.6 16.7 17.7	Sample 1 ....29 Sample 2 26
ネヅミザメ Solmon shark Lamna conubica		19.2	20.4	32
メジロザメ Ground shark Carcharinus japonica		16.8	17.8	28
アオザメ Blue shark Isuropsis glauca		9.4	8.8	15
アブラツノザメ Dogfish Squalus suckeyi		22.3	22.0	36
アイザメ Deep sea shark Dakatias atromarginaus	42.8	43.6	44.8	72

表記の如くアイザメ皮の如きは無水物の 72% もが鱗であり，著者等が実験に主として用いているヨシキリザメ皮にても 30% に近い鱗が存在している。

これら附着量を考慮して各成分含有量を計算したものが第1～5表に「脱鱗無水物に対する%」として示したもので，これらは牛皮の「真皮の無脂肪無水物に対する%」と一応対照しうるものである。

なおサメ皮の鱗の附着量はその皮のゼラチン収量という点からも注目すべきものである。又先に報告した「サメ皮の水分について」[26]の結果は鱗の水分と真皮の水分とに差異があるものと考えられるので鱗の附着割合を考慮の上見て頂きたい。

摘　　　　要

著等は水産皮特にサメ皮の製革及び製膠作業に独自かつ有効な方法を得る目的で研究を行つているが，本研究に於いてはその基礎資料の一つとしてサメ皮の蛋白組成を検し，又魚皮と獣皮との性質の差異の原因を知る手掛を得たいと考えて魚皮コラーゲンのアミノ酸について分析した。その概要を記すと次の如くである。

1）　ヨシキリザメ皮の頭，背，尾及び腹の4部位についてグロブリン＋アルブミン含有量を検した。4部分とも大約同様で 0.69～1.06%（生皮に対して）……〔脱鱗無水物に対して 4.76～7.02%〕……が存在し，牛皮のそれよりもやゝ多い。

2）　ヨシキリザメ皮について（1）と同様の各部分のムコイド含有量を検し，0.28～0.41%（生皮に対し）……〔脱鱗無水物に対し 1.93～2.83%〕……の結果を得た。この値は牛皮のムコイド含有量の約 5～6 倍である。上記2結果に見る如くサメ皮は牛皮に比して夾雑蛋白質が多いから，これらを除去する目的にて行われる石灰漬作業はサメ皮にては牛皮よりも充分に行う必要があると考えられるが，一方サメ皮コラーゲンは牛皮コラーゲンよりも石灰液中にて変性し易いから，これらの点を併せ考えてサメ皮の石灰漬作業を行うべきであると思う。

3）　サメ皮のエラスチン含有量は牛皮に比して多く 0.04～0.39%（生皮に対し）……〔脱鱗無水物に対し 0.19～2.74%〕……である。なおヨシキリザメ皮にては背皮（0.04～0.10%……生皮に対し）は腹皮（0.13～0.39%）に比してエラスチン含有量が遙に少い。アオザメ皮にては上記両部とも大約同様（0.16～0.29%）である。

4）　ヨシキリザメ皮のコラーゲン含有量は僅かに 13% 程度にて，牛皮のそれ（約 30 %）に比し僅少である。これはヨシキリザメ皮の水分の多いことに主として原因するもので，この点水分の多いサメ皮はゼラチン原料としてその収量という面から不利である。

5）　魚皮と獣皮との性質の原因を説明する手掛りを得たいと考えて魚皮コラーゲン及び獣皮コラーゲンのアミノ酸組成を検したが，両者の間に差異が認められなかつた。

i）　ヨシキリザメ皮から調製したコラーゲンのアミノ酸組成を検したが VAN SLYKE 法及びペーパークロマトグラフ法にては獣皮コラーゲンとの間に差異が見られなかつた。

ii）　サメ皮コラーゲンの熱水易溶性部分と難溶性部分とのアミノ酸組成に差異があるのではないかと考え比較的低温（63°C）にて抽出された部分のアミノ酸の種類をペーパークロマトグラフ法にて検したが，上記に予想したような事はなさそうである。

6　著者等はサメ皮の成分含有量を検する際鱗つきのまゝ分析したが，この結果を牛皮等の真皮についての結果と比較したいと考え，鱗つき皮の結果を鱗のない皮の値に換算するためにサメ皮の鱗の附着量を検した。アイザメ皮の鱗附着量は 70% にも達し，ヨシキリザメ皮にても 30% 程度である。

成分量について この鱗の附着量を考慮したものが「脱鱗無水物に対する%」で，牛皮等の「無脂肪無水物に対する%」というものに対応するものである。

終りに臨み本研究に際し御助言を賜つた右田正男先生に深謝の意を表す。

文　　　　献

（1）　高橋豊雄：日水会誌　19，1203（1954）.

（2）　高橋豊雄，田中武夫：　同上　603（1953）.

（3）　K. H. GUSTAVSON.　*Svensk Kemisk Tidskr* 54 74（1942）.

（4）　常俊催三：　神戸工試 2,1（1940）

(5) 菊地実，菊地真一： 工化会誌 **42**,782 (1932).
(6) 大谷武夫，下条信治： 日水会誌 **15**,131 (1941).
(7) A.C. Chibnall : *J. Jntern. Soc. Leather Trides Chem.* **30**,1 (1946).
(8) J.H. Bowes & R.H. Kenten : *Biochem J.* **43,358** (1948).
(9) G.C Nutting & R. Borasky : *J. Am. Leather Chem. Assoc.* **43**,96 (1948).
(10) R. Porasky & T.S. Rogers : *Ibid.* **47**,312 (1952).
(11) R.S. Bear : *Advance in Protein Chemistry* **7**,69 (1952).
(12) W.T. Astbury : *J. Intern, Soc, Leather, Tradis Chem.* **24**,69 (1940).
(13) G.B. Mclaughlin & E.R. Theis : *J, Am, Leather chem Asso,* **19**,428 (1924).
(14) 佐々木林治郎，佐藤泰： 昭和 27 年 6 月，日本皮革研究会にて講演.
(15) Y. Okuda : *J. Coll. Agric.*. Tokyo. **5**,355 (1916).
(16) H. Stiasny : *Gerbereichemie* (1931).
(17) 山田紀作： 南洋水産叢書，第 10 輯 (1942).
(18) R.H. Marriott : *Allen's Commerical Organic Analysis* **10**,197 (1933).
(19) H.D. Dakin : *J. Biol Chem.* **44**,499 (1920).
(20) W.E. Braybrooks : *J. Intern. Soc. Leather Trade's Chem.* **23**,73 (1939).
(21) R.E. Neuman : *Arch. Biochem.* **24** 289 (1949).
(22) R.E. Neuman & M.A. Logan : *J. Biol chem* **184**,299 (1950).
(23) 佐竹一夫： 化学の領域 **3**,364 (1949) より
(24) 金丸競，祖父江寛： 高分子構造論 **2**,936 (1948) より.
(25) 高橋豊雄，横山和吉： 日水会誌 **14**,223 (1948).
(26) 高橋豊雄，塩川あや子： 同上 **18**,333 (1953).

水産皮革の理化学的研究—XI. 魚皮コラーゲンに対するトリプシンの作用

高橋豊雄・竹井 誠
（東海区水産研究所）

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals—XI. The Tryptic Digestion of the Collagen in Fish Skin

Toyo-o TAKAHASHI and Makoto TAKEI

The triptic digestion of the collagen in fish skin was studied with the intention of obtaining some information for the bating of fish skin. The results obtained are as follows:

(1) It was found that fish skin-collagen was digested by trypsin less easily than collagen which had bee subjected to hydrothermal shrinkage; and the collagen having lower T_s was digested somewhat more easily than that having higher T_s.

(2) The collagens were digested by trypsin at a certain temperature and above. This temperature was lower for the collagen having lower shrinkage temperature (T_s) than for that with higher T_s.

(3) The tryptic digestibility of collagen at lower temperature (20—25°C) was increased by the pretreatment with hot water, temperature of which was controlled not to cause heat-shrinkage. The increase of digestibility was remarkable for the collagen in fish skin.

(4) The collagen which had been shrunk in hot water or in urea solution was easily digested by trypsin. Horny fibre, however, was hardly digested even after it was subjected to a treatment so as to lower T_s from 60° to 50°C.

From these results it may be said that when Ts of the skin is low, the temperature of the bating bath should be held lower.

序　論

製革作業に Bating（戻し）と称する作業があるが，これは主として膵臓酵素によつて皮を処理する作業で，主に表皮細胞及び毛等が石灰漬によつて分解されて生じたケラトースを消化，溶出し，銀面（革の表面）を滑沢にし，革に柔軟性を与えるためのものである[1,2]。然し或る種の条件下にてはコラーゲンが消化され[2)3)4]，革を特に柔軟にし時には所謂「腰のない」革とする場合もある。

GUSTAVSON[5] によると牛皮コラーゲンはトリプシンに作用されないが，タラ皮コラーゲンは消化されるとのことで，氏はこれら両種コラーゲンのトリプシンによる消化の異るのは牛皮コラーゲンにてはその peptide 結合の多くが分子間にて相互に水素結合を作つてトリプシンに抵抗性を有しているのに反し，タラ皮コラーゲンにてはこのような水素結合が少くトリプシンに消化されるためであろうと考えている。尚氏はこのような水素結合の多少を両種コラーゲンの熱収縮温度（T_s）の高低等から推察している。

著者等の結果によると魚皮はその原料魚の種類によつて T_s が種々様々で，例えばコイ皮 58°C，セイゴ

1954年8月24日受理　東海区水産研究所業績 B 第163号

皮 53°C，ヨシキリザメ皮 53°C，ユメザメ皮 40°C の如くである×。GUSTAVSON の説に従えばこのように種々の T_s を示す魚皮は当然トリプシンに対し種々異なる消化状態を示すものと考えられる。もしも魚種によってその皮の消化状態が異るとするとその消化状態を知ることは戻し作業の基礎資料として是非必要な事と思われる。そこで著者等は T_s の種々異なる各種の魚皮についてトリプシンによる消化を次のように実験した。

実験 1. 魚皮コラーゲンを 20°C にてトリプシン消化させた場合

試料：使用した試料は温水性魚皮としてはセイゴ(*Lateolabrax japonicus*)，コイ(*Cyprinus carpio*)，及びヨシキリザメ(*Prionace glaucus*)の皮を用い，冷水性魚皮としてはカワマス(*Salvelinus fontinalis*)，及びユメザメ(*Centroscymnus owstoni*)の皮を用いた。これらの皮から肉を完全に取去り，鱗及び粘液も出来るだけとり，これを硼砂緩衝液（pH 9.6）に浸漬し（0°C，24 時間），夾雑蛋白を溶出せしめ，次に表皮を完全に取り去った後充分水洗した。

酵素：GROSS 単位 37,000 の国産トリプシン製剤を用いた。

消化操作：上記の如く精製した魚皮コラーゲン 2.0 g を 0.2 %トリプシン液 5 cc と燐酸緩衝液（pH7.0）20 cc の混液に浸漬し，クロロホルム及びトルオール 2，3 滴を加え，20°C に放置（67～95 時間）し，消化，溶出した窒素を定量して，これら魚皮コラーゲンの消化を検した。

この際消化温度を 20°C というような低温度とし，又酵素液の pH 価を 7.0 にしたのは出来るだけコラーゲンに変性の生じるのを避けたいと考えたためである。得た結果は第1表上段の如くである。

同様の実験を試料 1.0 g を用い，24 時間消化（他の条件は前と同じ）した結果は第1表，下段の如くである。

これ等の結果から魚皮コラーゲンは総て，比較のために用いた熱収縮金糸××よりも遙に僅しか消化されないようである。

Table 1. Tryptic digestion of collagen in fish skins having diffierent shrinkage temperatures (T_s). Temperature of digestion, 20°C; concentration of trypsin, (Gross' unit, 37.000), 0.04 %; pH value of trypsin solution, 7

Kind of samples	Collagen digested, % **	T_s, °C
Carp skin (コイ)	3.2—3.7 (67)	56—59
Common sea bass skin (セイゴ)	2.4—3.6 (93)	53—55
Great blue shark skin (ヨシキリザメ)	2.8 -4.0 (67)	53
Deep sea shark skin (ユメザメ)	3.2—4.1 (95)	40
Brook trout skin (カワマス)	6.2 (95)	42
Cattle hide (牛)	0.3 (24)	63
Great blue shark skin (ヨシキリザメ)	2.1 (〃)	
Deep sea shark skin (ユメザメ)	2.4 (〃)	
Horny fibre* (金糸)	0.3 (〃)	60
Horny fibre subjected to hydrothermal shrinkage (熱収縮した金糸)	13.7 (〃)	

* The principal constituent is "elastoidin" which seems to be one of collagens. ** Period of digestion, hrs.

× 著者等は魚皮コラーゲンの T_s を測定する際にこれらが変性を受ける事をおそれて魚皮を冷水にて洗滌する程度に処理するのみで T_s を測定したが，最近の GUSTAVSON[6] の研究結果等を参照すると，上記のような著者等の魚皮についての測定値をもってその皮のコラーゲンの T_s としてよいようである。

×× この金糸は厳格な意味では皮コラーゲンと同一物とはいえないようであるが，広義のコラーゲンと考えられているものであり[9]，又これは熱変性（収縮）しても比較的難溶性である[10]ので，著者等は本研究にてこれを変性皮コラーゲン（トリプシンにて容易に消化される）に対するトリプシンの作用を類推するために用いた。

第1表の結果は前記の如き方法にて出来るだけグロブリン，アルブミン等の夾雑蛋白質を除去した皮について得たものであるが，尙この皮にはコラーゲン以外の夾雑蛋白質（エラスチン* 等）が多少とも殘存することも考えられ，又コラーゲン自身に予め変性をうけていて消化され易くなつた部分が生じていてこれらがトリプシンによつて消化され，それが第1表の結果に影響したとも考えられる。このように考えて第1表の実験にて一度トリプシン消化を行つてコラーゲン以外の夾雑蛋白及び変性コラーゲンを大約完全に除去し得たと考えられる試料に就いて前同様の方法で消化試験を行つた。得た結果は第2表の如くである。

Table 2. Tryptic digestion of fish collagen pretreated with trypsin. Temperature of digestion, 20°C; period, 74—91 hours; concentration of trypsin (Gross' unit, 37.000), 0.04%; pH value of trypsin solution, 7

Kind of samples	Collagen digested, %	T_s, °C
Carp skin（コイ）	0.4	56～59
Great blue shark skin（ヨシキリザメ）	0.4	53
Brook trout skin（カワマス）	1.7	42
Deep sea shark skin（ユメザメ）	2.2	40

第2表の結果は第1表のそれよりも遙にトリプシンによる溶出窒素量が少い。從つて第1表の結果には夾雑蛋白及び変性コラーゲンの影響があつたように思われる。

本実験の結果から T_s の低い（約40°C）魚皮コラーゲンも 20°C にてはトリプシンにて消化され難いようである。尙第1表及び第2表の結果に見られるようにその差は極く僅であるが，T_s の低い皮のコラーゲンは高いものよりもトリプシンにて消化され易いようである。

実験 2. 魚皮コラーゲンがトリプシンにて消化され難いということの確認

実験1に記載したように著者等の実験結果によると T_s が 40°C というように低いユメザメ皮をも含めて魚皮コラーゲンはトリプシンにて比較的消化され難いようである。このような結果は前記の Gustavson の結果と異るものであるが，何故に著者等の場合魚皮コラーゲンが消化され難かつたのであろうか。この原因について二，三次のような検討を行つた。

a） 消化条件の影響

Gustavson はタラ（*Gadus morrhua*）皮コラーゲンを 0.4%の Merk 製トリプシン（Gross 単位 40.000）溶液で消化し，その消化液は炭酸カルシュームにて pH 価を 7.8～8.0 になし，消化温度は 25°C にて行つている。このように著者等の場合に比して特に酵素液の濃度が大であり，尙消化温度も高く，又消化液の pH 価も炭酸カルシュームにて高く保たれていた。このような消化条件の差異が著者等の結果と差異を生じたとも考えられるので，この点を確めるためタラ（*Gadus macrocephalus*）皮コラーゲンについて Gustavson と大約同様の条件にて消化試験を行つた。特にトリプシンの濃度の影響について実験した。即ち種々の濃度（0.04～0.6%）の Merk 製トリプシン（Gross 単位 40.000）溶液に 0.12 g の炭酸カルシュームを加え，これにタラ皮コラーゲン 1.0 g を入れ，クロロホルム及びトルオール各 2，3 滴を加え，24.5°C にて 24 時間消化した。得た結果は第3表（第2欄）の如くである。

表記の如く前実験にて著者等が用いた程度のトリプシン濃度（0.04%）にては他の消化条件を Gustavson のそれと同様にしても僅に 4%程度が消化されるのみであつたが，Gustavson の用いた濃度（0.4%）にては約 10%が消化された。然し容易に消化されるという程ではないように思われる。

---

* 魚皮には比較的多量のエラスチンが含有され，著者等[7]の分析結果によるとヨシキリザメ真皮には 0.2～2.9%（乾物中），スケソーダラ真皮には 1.0%存在していた。これらエラスチンは著者等の方法にて調製したコラーゲンと称するものの中には殘存しているはずである。なお然しこの点に関してはエラスチンが純トリプシンにて消化されるか否かという事[3]が尙問題として残るように思われる。

尚消化温度を 20°C に低下させて同様の実験を行つたが，上記と大約同様であつた（第3表参照)。

Table 3. Influence of trypsin concentration on the digestion of skin-collagen of the cod (*Gadus macrocephalus*). Period of digestion, 24 hours ; pH value of trypsin solution (controlled with $CaCO_3$), 8

Concentration of trypsin* solutions, %	Collagen digested, %	
	Temp. of digestion, 24.5°C	Temp. of digestion, 20.0°C
0.6	10.2	8.0
0.4	10.2	7.6
0.2	7.5	3.1
0.04	3.9	1.8

* Merk's trypsin (Gross' unit, 40.000)

b) 試料調製法の影響

Gustavson はタラ皮からコラーゲンを調製する際に皮を水酸化カルシユーム飽和溶液にて処理して夾雑蛋白質を除去しているが，著者等はこの目的に対し，pH 9.6 の硼砂緩衝液を用いた。pH価 等を異にするこれら両液による処理がタラ皮コラーゲンの消化に対しどのように影響するかを検した。

鮮度良好なタラ皮の肉，鱗等を完全に除去し，冷水にて洗滌した後，水酸化カルシユームの 1%懸濁液に浸漬し，時々攪拌し，3日間約 5°C に放置した。その後これを充分水洗（10~12°C）し，次に 1%硫酸アンモニア溶液（約 5°C）に1日間浸漬；脱灰し，表皮を完全にこすり取り，再び充分に水洗しこれを試料として用いた。一方対照試験用として上記と同じタラ皮を著者等の常法により硼砂緩衝液にて処理精製した。

酵素濃度 0.4%（使用液量 25 cc），消化温度 25°C，消化時間 24 時間，炭酸カルシユームにて pH価 を調整し，上記両種のタラ皮コラーゲン（1.0 g）を消化せしめた。

得た結果は第4表の如くである。

表記の如く著者等の常法にて硼砂処理したタラ皮コラーゲンの方が寧ろ石灰処理したものよりも消化され易いようである。尚本実験にて一度消化した試料を再び同条件にて消化した結果は第4表に併記した如くで石灰処理したものからは再消化により溶出する窒素量が非常に少くなつた。

Table 4. Tryptic digestion of cod skin-collagen prepared differently. Temperature of digestion, 25°C ; period, 24 hours ; concentration of trypsin, 0.4%

Kind of collagen preparations	Collagen digested, %	
	In the 1st digestion	In the 2nd digestion following the 1st
Treated with borate buffer (PH 9.6)	14.6	12.8
Treate dwith saturated $Ca(OH)_2$ solution	9.2	3.7

上記のように魚皮コラーゲンを調製する際に魚皮を水酸化カルシユーム飽和溶液にて処理しても，亦 pH 9.6 の硼砂緩衝液にて処理しても得られたコラーゲンのトリプシンによる消化には余り差異はないようである。

c) 材料魚皮の鮮度

魚皮の鮮度が異ることによりこれから調製されたコラーゲンがトリプシンによつて消化される状態が異るのではないかとも考えられるのでこの点について実験した。

漁獲後 5~6 時間氷蔵したタラから剝し取つた皮をその後1昼夜氷蔵し，この皮から常法（硼砂処理）にてコラーゲンを調製し，一方上記の如く氷蔵した皮を 15°C に3日間放置鮮度を低下させた後，これから前者と同様にコラーゲンを調製した。

消化条件は前実験（b）と同様である。その結果は第5表の如くであり，尚上記の如く一度消化させた試料を再消化した結果をも同表に附記する。

表記の如く鮮度の低下した皮から調製した方が寧ろ幾分消化され難いようにも思われる。なお再消化にては両者共にトリプシンによる溶出，窒素量が一回目の消化よりも減少した。

d) 酵素液中の防腐剤の影響

Table 5. Tryptic digestion of collagen from fresh and stale cod skins. Temperature of digestion, 25°C; period, 24 hours; concentration of trypsin, 0.4%

Kind of skins	Collagen digested, %	
	In the 1st digestion	In the 2nd digestion
Fresh skin	10.4	4.8
Stale skin	7.7	3.8

著者等は消化試験に於いて細菌による汚染を防ぐため酵素液にトルオール及びクロロホルムを添加したが GUSTAVSON は防腐剤を用いていないようである。トルオール，クロロホルム等が酵素の活性を低下させることが報告[11]されているから或るいは著者等がこれらを用いたためにトリプシンの活性に変化を生じ，タラ皮コラーゲン等が消化され難かつたのではなかろうかと考え，次の実験を行つた。

防腐剤としてトルオール（5滴），クロロホルム（6滴），トルオール＋クロロホルム（各々5滴），チモール（0.3%）を夫々 0.6% の MERK 製トリプシン（GROSS 単位 15.000）液 25 cc に加え，炭酸カルシュームにて pH価を調製し，これにタラ皮コラーゲン 0.5 g を入れ，20°C, 24 時間消化した。尚防腐剤を全く添加しないものも同様に行つた。得た結果は第6表の如くである。

Table 6. Effect of the antiseptic on the tryptic digestion of cod skin-collagen. Temperature of digestion, 25°C; period, 24 hours; concentration of trypsin (GROSS' unit, 15.000), 0.6%

Kind of antiseptic applied	Collagen digested, %
Toluol	5.2
Chloroform	6.4
Toluol+Chloroform	4.8
Thymol	6.7
None	4.8

表記の如く著者等の行つた実験条件下にてはトルオール，クロロホルム，チモール等はトリプシンのタラ皮コラーゲンに対する消化力に影響はないようである。T_s の低いタラ皮コラーゲンはトリプシンにより 25°C にても容易に消化されるという GUSTAVSON の結果に反する著者等の結果を検討するため上記諸実験を行つたが，種々の実験条件下にても著者等の用いたタラ皮コラーゲンにては GUSTAVSON の報告するように容易に消化するというようなことは認められなかつた。

実験 3. コラーゲンのトリプシン消化に対する温度の影響

最近 BORASKY 及び ROGER[12] は collagen fibril に対する酵素作用を電子顕微鏡を用いて研究し，collagen fibril が酵素作用を受けるためには先づ加熱等によつて予めその構成単位である filament に分離する事が必要であると報告している。又両氏はサメ皮コラーゲン（T_s, 45°C）が牛皮コラーゲン（T_s, 63°C）よりも消化され易いのは前者よりも温水により作用され易いことが主な理由であると述べている*。

在来牛皮コラーゲンはトリプシンにて消化されないともいわれたが，それはトリプシンの至適温度と思われる 37～40°C にて行われた場合であつて，KÜNTEL 等[3] の結果にも見られるように消化温度が 40°C 以上になると温度の上昇と共に急激に消化されるようになる。このことは BORASKY 等の観察を裏書するようにも思われる。

このような BORASKY 等の報告及び先に述べた GUSTAVSON の説，即ちコラーゲンに対するトリプシンの消化の難易はコラーゲンポリペプチッドに於ける peptide 結合の相互の間に生ずる水素結合の多少によるという説等から考えるとコラーゲンのトリプシン消化に対する温度の影響はそのコラーゲンの T_s の異ることによつて種々であると考えられる。

而してこのように T_s の異ることによつてそのコラーゲンの消化に対する温度の影響が異るということは T_s の種々異る皮を取扱う水産皮の bating に於いて非常に重要な問題であると思われる。かくして著者等

* 両氏の用いた消化温度は 37°C である。

は T_s の異る二，三の皮コラーゲンのトリプシン消化に対する温度の影響について次のような実験を行つた。尚 T_s も高く（60°C）又熱水に比較的難溶な金糸についても同様に実験した。

精製した皮コラーゲン（或るいは金糸）1.0 g を 0.04 %の Merk 製トリプシン液（pH 7.0…燐酸緩衝液）に入れ，トルオール，クロロホルム各々2滴づつを加え，種々の温度にて 24 時間消化せしめた。得た結果は第1図の如くである。

図に見る如く 20°C にてはユメザメ皮，ヨシキリザメ皮及び牛皮のかくコラーゲン及び金糸は総て殆んど同様に消化され難いが，35°C にてはユメザメ皮コラーゲンは相当に消化され，牛皮コラーゲンは 45°C にても差程消化されないが，50°C にては比較的多量に消化される。ヨシキリザメ皮コラーゲンは上記二者の中間的性質をしめし，金糸は牛皮コラーゲンよりも一層消化され難いようである。

上記の結果から考えると，もしも普通消化試験に用いられるような 35～40°C にて消化が行われるならば ユメザメ皮＞ヨシキリザメ皮＞牛皮＞金糸の順に消化され易い事になり，これはそれらの T_s の順序と大約一致する。

かくして魚皮を bating する際にはその魚種について充分考慮してその処理温度を定める事が必要である。魚皮はすべて牛皮よりも低温度にて行い，魚皮の内でも T_s の低い冷水性のものは特に低温度（25°C 以下）にて行うべきである。

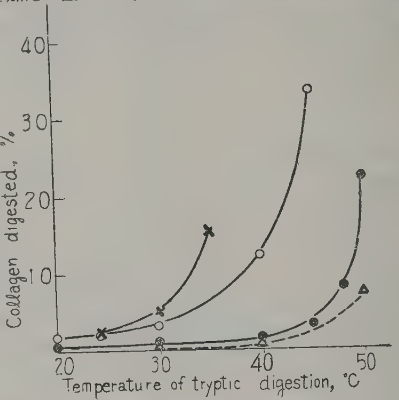


Fig. 1. Effect of the temperature on the tryptic digestion of collagens in shark skins and the others. Period of digestion, 24 hours; concentration of trypsin, 0.04 %. ×, deep sea shark skin-collagen; ○, great blue shark skin-collagen; ●, cattle hide-collagen; △, horny fibre

実験 4. 高温度（T_s 以下の）にて予備処理したコラーゲンの 20～25°C に於けるトリプシン消化

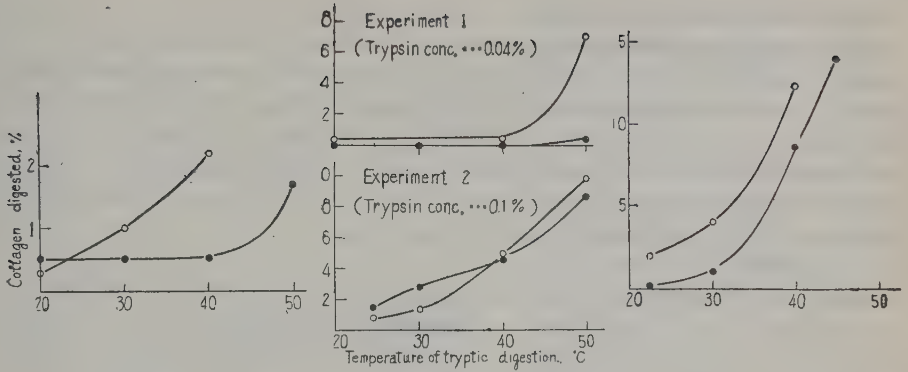
前実験に見られたように或る温度以上になるとコラーゲンはトリプシンによつて容易に消化されるようになり，その温度がコラーゲンの種類によつて異り，T_s の低いものほど低温度にて消化される。若しも前記の Borasky 等の電子顕微鏡による観察のように，コラーゲンが酵素によつて消化される際には先づ collagen fibril が filament に分離し，これが酵素によつて消化されるということが事実であるならば，予め比較的高温度（コラーゲンがトリプシンにて消化されるような温度，然しコラーゲンが熱収縮しないような温度）にてコラーゲンを加熱処理し，その後これを比較的低温度（普通ならばそのコラーゲンがトリプシンにて消化されないような温度）にてトリプシン消化を行うならば，このような予備加熱されたコラーゲンは消化されるように思われる。もしもこのような推察が事実であるならば，これは bating に対する予備処理の影響という立場から製革上重要な問題と思われるのでこの点について次の実験を行つた。

a) 牛皮コラーゲンについての実験

牛皮コラーゲンを 20～50°C の各種温度の pH 7.0 の燐酸緩衝液に浸漬（クロロホルム，とトルオール添加）し，24 時間放置した後，これらに Merk 製トリプシン 0.04 %を添加し，24 時間，20°C にて消化した。

得た結果は第2図Aの●印にて示したものであるが，同図に共に図示した前実験の結果（○印），即ち予備加熱せず各種温度にてトリプシン消化した結果と対比することによつて明かなようにに 50°C に予備加熱しても極く僅消化され易くなるのみである。

b) 金糸についての実験



Pretreatment temperature for ●; digestion temperature for ○, °C.

A (Cattle hide) B (Horny fibre) C (Great blue shark)

Fig. 2. Effect of the pretreatment temperature on the tryptic digestion of collagens at 20°C. Period of digestion, 24 hours; concentration of trypsin, 0.04% in A and C, 0.1% in B. ●, digested at 20°C after pretreatments at different temperatures; ○, digested at different temperatures without pretreatments

金糸について前実験（a）と同様の実験を行つた。酵素液の濃度が 0.04％の場合には 50°C に予備加熱しても牛皮コラーゲンよりも更に僅に消化され易くなるのみであるが（第2図，B の実験 1，参照），酵素濃度 0.1％にては予備加熱の効果が明かに表われるように思われる。（第2図，B の実験 2 参照）

c） **ヨシキリザメ皮コラーゲンについての実験**

上記二実験と同様の実験をトリプシン濃度 0.04％にてヨシキリザメ皮コラーゲンについて行つた。得た結果は第2図，C の●にて図示したものである。尚同図中の○印は予備加熱せず各種温度にて直ちに消化した結果である。図示の如くヨシキリザメ皮コラーゲンにては低濃度の酵素液にても 40°C に前処理するとその処理効果が相当表われた。

本実験の諸結果に認められるように酵素濃度が低い場合（0.04％）には牛皮コラーゲン及び金糸にては予備加熱の効果が余り明かには認められないが，金糸の実験に於ける如く酵素濃度が高くなると（0.1％）予備加熱の効果が比較的明かに表われた。ヨシキリザメ皮コラーゲンにては酵素濃度が 0.04％にても予備加熱の効果が比較的明かに認められた。このように一応コラーゲンが予備加熱される事により低温度にてトリプシンにて消化され易いものに変化するということが認められたが，Borasky 等によれば加熱処理等によつて collagen fibril が T_s のより低い filament に分離するとのことであるから著者等の場合にも予備加熱され，トリプシンにて消化され易くなつたコラーゲンは T_s が低下していると考えられる。上記の諸実験に用いた試料について T_s の変化を検してみた。

金糸にては 24～50°C に 24 時間加熱した場合には当初の T_s が 60°C 前後であつたものが，55°C 附近にて緩かな収縮を開始し，約 60°C にて急激に収縮するようになつた。ヨシキリザメ皮コラーゲンは当初 T_s が約 50°C のものが 40°C に 24 時間予備加熱すると T_s が約 40°C に低下し，又 30°C に予備加熱すると 40°C 附近から徐々に収縮し始め，約 50°C にて急激に収縮した。

これら T_s についての結果を前記の消化性の増大ということと定量的に結びつけて説明する事は出来ないが，Borasky の観察に基く著者等の予想を一応裏書するように予備加熱したコラーゲンはそのトリプシンによる消化性を増大し，T_s を低下した。

本実験の結果から皮を bating する際の条件はその皮の bating 前の諸操作をも考慮して定めるべきであ

るということが云えるであろう。

実験 5. 変性した金糸に対するトリプシンの作用

著者等は前諸実験に於いて金糸の蛋白質が 40°C 以下にては殆んどトリプシンにて消化されず，又予備加熱してもトリプシンにより余り消化され易くならないことを認めた。この金糸の蛋白質は前記したように厳格な意味では皮コラーゲンと同一物とはいえないと思われるが，広義のコラーゲンと考えられているものであり，これは熱変性（収縮）しても比較的水に難溶性であるので，著者等はこの金糸が熱変性及び尿素変性を受けた際に低温度（20～25°C）にてトリプシンによりどのように作用されるかを検し，一般の変性コラーゲンに対するトリプシンの作用を類推する資料としたいと考えた。

a） **金糸の変性**

熱変性： 金糸を水中にて加熱すると 60°C 前後にて収縮し始め，100°C にて大約 1/4 程度に収縮する。

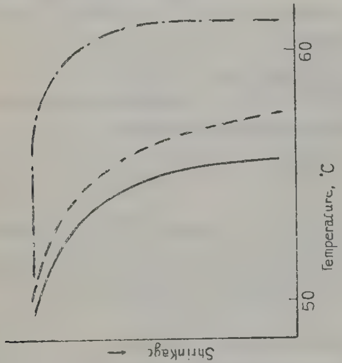


Fig. 3. Hydrothermal shrinkage of the native horny fibre and that treated with urea. —•—, native horny fibre; ……, the fibre immersed in 60% urea for 2 days; ——, the fibre immersed in 60% urea for 4 days

尿素変性： 40～60％の尿素溶液（25～30°C）に浸漬すると 3～5 日にて収縮し始め，30 日前後にて約 1/2 程度まで収縮する。然しその後は余り収縮を増加しない（第4図参照）。

尚尿素溶液中にて金糸は収縮前にも変性するようで，このことは尿素溶液中にて収縮の開始される以前にこれを取り出し，充分水洗し，その熱収縮状態を測定することによつて推察することが出来る（第3図参照）。

b） **変性した金糸のトリプシンによる消化（22～23°C に於ける）**

熱変性した金糸： 常法の如く硼砂処理により精製した金糸 0.2 g を 60°C 或るいは 100°C に加熱収縮せしめ，これらをそれぞれ 0.04％の Merk 製トリプシン溶液 25 cc（pH 7.0 の燐酸緩衝液 5 cc を含有。トルオール，クロロホルム添加）に浸漬し，22～23°C にて 24 時間（或るいは 68 時間）消化せしめた。得た結果は第7表の如くである。

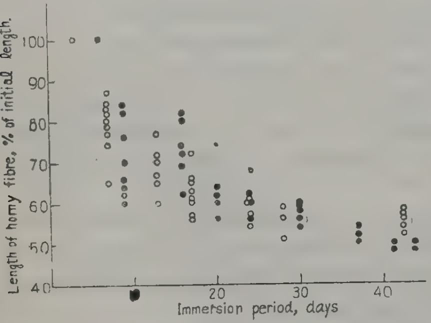


Fig. 4. Shrinkage of horny fibre in concentrated urea solution. ●, experiment A (40% urea at about 25°C); ○, experiment B (60% urea at about 20°C)

表記の如く熱収縮すると金糸は低温度（約 20°C）にてトリプシンにより容易に消化されるようになる。尚熱収縮率の大きいものの方が消化され易いようである。

尿素変性した金糸： 前記のように尿素変性（収縮したもの及び収縮しないが T_s の低下したもの）した金糸* 及び自然のまゝの金糸（硼砂処理にて精製）について 20°C にて前実験と同様なトリプシンによる消化試験を行つた。得た結果は第8表の如くである。

表記のように尿素溶液中にて T_s の低下（60°C→50°C）したものは 20°C にてトリプシンに消化され易くなるという事は認められなかつたが，尿

* 硼砂緩衝液にて精製した金糸を 60％尿素にて変性収縮させた後充分水洗したものであるが，これの全窒素量は 20.05％にて，尿素処理前の 18.90％よりもやゝ多量の窒素を有していた。

Table 7. Tryptic digestion of heat-denatured horny fibre. Temperature of digestion, 20°C; concentration of trypsin, 0.04 %

Kind of samples	Collagen digested, %	
	for 24 hours	for 68 hours
Shrunk to 36—40 % of the initial length in 60°C water	24.5	51.7
Shrunk to 28—30 % of the initial length in boiling water	43.2	53.3
Native fibre	0	0

Table 8. Tryptic digestion of horny fibre denatured with urea. Temperature of digestion, 20°C; period, 24 hours; concentration of trypsin, 0.04 %

Kind of samples	Collagen digested, %	T_s, °C
Urea-denatured fibre (shrunk to half its initial length)	16.2	
Urea-denatured fibre (maintaing its initial length, but decreasing its T_s)	1.5	50
Native fibre	1.2	60

Table 9. Tryptic digestion of heat-denatured skin collagen. Temperature of digestion, 30°C; period, 45 hours; concentration of trypsin, 0.001 %

Kind of samples	Collagen digested, %
Heat-denatured skin-collagen of great blue shark	70.7
Native great blue shark skin- collagen	0.9
Heat-denatured cattle hide-collagen	4.8
Native cattle hide-collagen	0.3

素溶液中にて1/2程度に収縮したものはトリプシンにて20°Cに於いて消化されるようになつた。

c) **熱収縮した皮コラーゲンのトリプシン消化**

牛皮コラーゲンを63～65°Cに短時間加熱し，面積が1/1.7に収縮したもの，及びヨシキリザメ皮コラーゲンを52.5°Cにて短時間加熱し，面積が1/2に収縮したもの，各々3.0gを0.001%トリプシン液（pH 7）200 ccに浸漬し，30°Cにて45時間消化した。尚対照試験として熱変性しない自然のまゝの上記両種のコラーゲンについても各々同様の消化試験を行つた。得た結果は第9表の如くである。

表記のように熱収縮した皮コラーゲンは自然のまゝのものに比してトリプシンにより消化され易い。なお本実験は0.001%というような稀薄なトリプシン溶液を用いたためか熱収縮した牛皮コラーゲンは余り消化されなかつたが，ヨシキリザメ皮コラーゲンの場合はこのような条件下にても顕著に消化された。

摘要及び考察

本実験の結果は次の如く要約することが出来る。

1) 魚皮コラーゲンは T_s の低い（約40°C）タラ皮コラーゲン等をも含めて，熱収縮したコラーゲンよりは遙にトリプシンにより消化され難いようである。尚 T_s の低い皮のコラーゲンは T_s の高い皮のコラーゲンよりもトリプシンにてやゝ消化され易いようである。

2) コラーゲンは総て温度が高くなるとトリプシンにて消化され易くなるが，T_s の低いコラーゲンほどより低温度にてトリプシンにより容易に消化されるようになる。

3) 熱収縮の生じない程度に予め熱処理するとコラーゲンは20°C前後の低温度にて多少とも消化され易くなる。この性質は魚皮コラーゲンにて著しいようである。

4) 熱水或るいは尿素溶液にて収縮したコラーゲンはトリプシンにて容易に消化される。然し尿素にて T_s の低下（60→50°C）した程度のもの（金糸）は尚トリプシンにて消化され難い。

著者等が本研究を行つたのは Gustavson の実験結果の如く T_s の低い魚皮がトリプシンにて容易に消化されるならば，T_s の低い魚皮を取扱う場合もある水産皮の製革に於ける bating にては この魚皮の容易な消化という事が重要な問題であると考えたからである。

上記の如く著者等がタラ皮を始め種々の T_s の低い魚皮について実験した結果では Gustavson によつて

報告されているような 20～25°C の如き低温度にてタラ皮コラーゲンが熱収縮したコラーゲンと同様に消化されるというようなことは認められなかつた。このように GUSTAVSON の結果と一致しない理由は不明であるが，或るいは原料魚のタラの種類の差というようなこと等が関係するのではなかろうか。氏の用いたタラ皮は水洗する間にすら時には縮むというような事も報告されているが著者等の用いたタラ皮にてはそのような事は認められなかつた。

本実験の諸結果から魚皮の製革に於いて T_s の低い魚皮も一応 bating を行う事が出来るものと考えられるが，T_s の低い魚皮（冷水性魚の皮）ほど低温度にて bating することが必要であり，又その処理温度はその魚皮の bating 前の熱経歴等を考慮して行う必要がある。T_s の低い魚皮にては bating 前に出来る限り低温度に保たれることが必要である。

終りに臨み，本研究に対し終始御助言を賜つた右田正男先生に深謝の意を呈す。

文　献

1) J. A. WILSON: "Mordern practice in leather manufacture" (1941).
2) E. STIASNY: "Gerbereichemie" (1931).
3) A. KUNTZEL and DIETSCHE: *Biochem. Z.*, **77**, 423, 435 (1931).
4) W. GRASSMANN: *Kolloid. Z.*, **77**, 205 (1936).
5) K. H. GUSTAVSON: *Svensk Kemisk Tidskrift.* **54**, 70 (1942).
6) K. H. GUSTAVSON: *ibid.*, **65**, 70 (1953).
7) 高橋豊雄，横山和吉：日水会誌，**20**，411 (1954)
8) 佐々木林治郎，佐藤泰：昭和 27 年 6 月日本皮革研究会年会にて講演.
9) Y. TSUCHIYA & T. NOMURA: *Tohoku J. Agric. Res.*, **4**, 43 (1953).
10) 高橋豊雄，横山和吉：水産研究誌，40，1 (1950).
11) 須山三千三：昭和 27 年9月，日本水産学会大会にて講演.
12) R. BORASKY & J. B. ROGERS: *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **47**, 312 (1952).

水産皮革の理化学的研究—XII.
魚皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量

高橋豊雄・横山和吉
（東海区水産研究所）

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals—XII. The Content of Hydroxyproline in the Collagen of Different Fish Skins

Toyo-o TAKAHASHI and Wakichi YOKOYAMA

Aiming to obtain an interpretation of the cause for variance in behaviours between fish skin and terrestial animal hide, the relation between hydroxyproline content in the collagen and shrinkage temperatur (T_s) of different animal skins was determined.

As a result, it has proved that there was a direct proportion between hydroxyproline content in the collagen and T_s of different animal skins (sample correlation coefficient=0.93). For this reason, hydroxyproline seems to play an important part in the difference in behaviours between fish skin and terrestial animal hide

魚皮と獣皮とにてはその耐熱性[1)2)]，鞣剤に対する性質[3)] 等に差異があり，これらの性質の差異にそれら各々のコラーゲンのアミノ酸組成が関係するように思われる。牛皮コラーゲンのアミノ酸組成については詳細な研究が行われ，最近のものとしては CHIBNALL (1946)[4)]，BOWES 及び KENTEN (1949)[5)] の報告がある。魚皮コラーゲンについては久しい以前に奥田 (1916)[6)] によつて報告された結果があり，又 STIASNY[7)] の VAN SLYKE 法による一分析結果があるのみである。著者等[3)]も先に報告せる如く両者コラーゲンのアミノ酸組成を調べたが，残念にも大約両者の間に差異がなさそうであるという程度の不確な結果が得られたのみであつた。

然るに 1950 年に NEUMAN 及び LOGAN[9)] の報告せる結果によるとタラ皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量 (9.0％) は牛皮コラーゲンのそれ (13.6～14.4％) よりも少いとの事であり，この結果について GUSTAVSON[2)] は安定性の少いタラ皮コラーゲンがハイドロオキシプロリンを少量しか含有しないという事は KLOTZ[10)] の結果と併せ考えると興味ある事であると云つている。KLOTZ によると或る種の球状蛋白質はハイドロオキシプロリンの OH 基がグルタミン酸の COOH 基と水素結合を作りその蛋白質を安定にしているとのことである。

著者等は NEUMAN 等のタラ皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量が牛皮のそれに比して少いということが総べての魚皮について共通の事実であり，特に種々の動物皮に於いて耐熱性（分子間結合の状態を指示するものである）とハイドロオキシプロリン含有量との間に相関々係があるならば魚皮と獣皮との性質の差異の原因を知る重要な手掛りとなり，又蛋白化学の方面からも意義ある事と考え，多種類の魚皮等についてそれ等の熱収縮温度（皮が熱水中にて収縮し始める温度）とハイドロオキシプロリン含有量を測定し，両者の相関々係を見た。

1954 年 9 月 10 日受理（印刷費負担） 東海区水産研究所業績 B 第 164 号

定量法

ハイドロオキシプロリンの定量には NEUMAN の方法を種々検討して用いたが，その方法の概要は次の如くである。即ちコラーゲンの塩酸加水分解物を中和し，これに苛性ソーダ及び硫酸銅を添加した後，過酸化水素にて酸化し，p-Dimethylaminobenzenaldehyde にて呈色させ，これを比色定量した。

方法の検討；次の諸点を検した。

（1） NEUMAN 等は EVELLYN 光電比色計にて測定し，No 540 のフィルターを用いているが，著者等は BECKMAN 分光々電計を用いたので予め呈色液の吸収曲線を測定した所 560 mμ に極大値が認められた。測定には常にこの波長を用いた。

（2） 発色後室温にて1時間半程度は殆んど褪色しないが，その後やゝ褪色するようである。

（3） 測定に際し常にハイドロオキシプロリンの標準液を対照として用いるので，この標準液（8 γ/ml）の保蔵性を検したが，3～4°C にて 13 日間変化せず，又 2 % 塩酸酸性にすると室温にて上記と同程度に貯蔵出来た。

（4） 著者等はコラーゲンを加水分解するために砂皿上にて 48 時間 20 % HCl と共に煮沸したが，このような条件下にてはハイドロオキシプロリンは分解されなかつた。

試料の調製

（1） 著者等は先ず市販の牛皮ゼラチンについてハイドロオキシプロリン含有量を測定した所，13.3 %の結果が得られ NEUMAN の結果とよく一致したが，マダラ皮からコラーゲンを調製して，これについて測定せるに 7.7 %で，NEUMAN の結果（9.1 %）よりも少かつた。このようにマダラ皮コラーゲンについてやゝ少い結果が得られた原因としては，著者等の試料の調製方法が不適当なためとも考えられるので，この点を検討してみた。即ち著者等はマダラ皮から表皮，肉等を庖丁等にて出来るだけ完全に除き，これを pH 9.5 の硼酸緩衝液に 24 時間浸漬し，アルブミン，グロブリン等の夾雑蛋白質を除き，次に流水にて洗滌し，0.1 %の純トリプシン溶液に 20°C にて 24 時間浸漬，エラスチンを除去した後再び庖丁等にて附着物を除去し，水洗し，アセトンにて脱水，エーテルにて脱脂し，これを 100°C にて乾燥，分析に供した。然し一般には夾雑蛋白質を除くために水酸化カルシュームの飽和溶液や 5～10 %食塩水が用いられている。又上記のように著者等はエラスチンを除くのに純トリプシンを用いたが，エラスチンは純トリプシンにては消化され難いともいはれている[11]。従つて著者等の場合，或るいは上記夾雑蛋白質の除去精製が不充分であり，これが原因して過少な結果が得られたとも考えられる。これらの諸点を考慮して 10 %食塩水及び 1 %局方パンクレアチンにて処理精製したスケソーダラ皮コラーゲン及び著者等が今迄に用いた方法にて精製したものの各々についてハイドロオキシプロリンを分析した。その結果によると著者等の方法のものにては 8.2 %，他の方法のものにては 8.1 %で，両者に差異はなく，著者等の調製方法にてもよいと云えるようである。

（2） 次に皮の鮮度がハイドロオキシプロリン含有量に影響するか否かを調べた。比較的新鮮なヨシキリザメ皮を 20～22°C に 3 日間放置し，水洗後再び 48 時間放置し，この皮からコラーゲンを調製し，ハイドロオキシプロリンを測定した。

その結果，上記のような試料については 10.2 %，新鮮なヨシキリザメ皮から調製したコラーゲンについては 10.5 %の結果が各々得られ，両者の間に殆んど差異がないようである。従つて試料となるべき皮の鮮度については余りこだわる必要はないようである。

尚前記の如くタラ皮コラーゲンについての著者等の結果が NEUMAN 等のそれに一致しなかつた理由は上記の実験からは何等の説明も得られないが，或るいは NEUMAN 等の用いたタラと著者等のそれとが種類等が異なるという事が原因するのではなかろうか。

実 験 結 果

得た結果，即ち各種魚皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量とその熱収縮温度 (T_s) とについての結果を表記すると第1表の如くである。ハイドロオキシプロリンについての結果は同一魚種の皮コラーゲンについて別個に塩酸分解を2回づゝ行つた。即ち表中加水分解物 (1) 及び (2) は塩酸分解を別個に行つたものについての結果であり，なおこれらの値は同一分解物について二回の測定の平均である。

熱収縮温度は出来るだけ鮮度のよい皮を冷水にて水洗した後常法[1]に従つて測定した。*

Table 1. Hydroxyproline content in the collagen and shrinkage temperature (T_s) of different animal skins

Sample No.	Species	Hydroxyproline content, % of collagen			T_s, °C
		Hydrolyzate (1)	Hydrolyzate (2)	Mean	
1	スケトータラ Alaska pollak *Theragra chalcogramma*	8.0	8.3	8.2	38.[illegible]~38.6
2	ホツケ Atka mackerel *Pleurogrammus azonus*	8.5	8.5	8.5	39.3~39.8
3	アカガレイ Flathead flounder *Hippoglossoides dubius*	8.5	8.6	8.6	39.8
4	マダラ Codfish *Gadus macrocephalus*	7.7	7.7	7.7	40.0
5	ヤナギムシガレイ Flounder *Tanakius kitaharae*	8.7	8.8	8.8	42.9~43.3
	マガレイ Small-mouthed sole *Limanda herzensteini*	8.8	9.0	8.9	43.5~44.2
7	アザバカレイ A kind of flounder *Lepidosetta mochigarei*	9.4	9.7	9.6	46.8~46.9
8	ヒラメ Japanese halibut *Paralichthys olivaceus*	9.5	9.2	9.4	48.6~49.1
9	サバ Japanese mackerel *Scomber japonicus*	9.5	9.8	9.7	49.8~50.0
10	ワラサ Yellowtail *Seriola quinqueradiata*	10.0		10.0	47.9~51.9
11	アジ Jack mackerel *Trachurus japonicus*	9.5	10.0	9.8	50.6~50.9
12	ウナギ Fresh water eel *Anguilla japonica*	9.4	10.1	9.8	52.9
13	ヨシキリザメ Great blue shark *Prionace glauca*	10.7	10.7	10.7	52.0~53.0
14	フナ Wild goldfish *Carassius carassius*	11.4	12.8	12.1	55.1~57.0
15	コイ Carp *Cyprinus carpio*	10.9	11.1	11.0	55.9~58.2
16	長須鯨 Fin whale *Balaenoptera physalus*	10.2	11.0	10.6	57.0
17	金糸 Horny fibre of shark	6.9	7.4	7.2	60.0
18	牛 Cattle *Bostaurus avar domesticus*	12.6	12.4	12.5	62.9
19	牛皮ゼラチン Cattle hide gelatin	13.3	13.4	13.4	

* 著者等の方法にて測定した魚皮の T_s はその皮のコラーゲンの T_s と考えてよいようである。[2]

なお種々のサメ皮のコラーゲンについてハイドロオキシプロリン含有量を測定した結果は第2表の如くで

Table 2. Hydroxyproline content in the collagen of different shark skins

	Hydroxyproline content, % of collagen	T_s, °C
ユメザメ Deep sea shark *Centroscymnus owstoni*	8.6	36.3～37.3
アブラツノザメ Dogfish *Squalus suckleyi*	9.1	43.1～43.4
メジロザメ Ground shark *Carcharinus japonicus*	9.1	52.0～53.0
ニタリザメ A kind of thresher shark *Alopias profundus*	10.9	53.1～53.5
アオザメ Blue shark *Isuropsis glauca*	10.4	53.1～53.5
ヨシキリザメ Great blue shark *Prionace glauca*	10.7	52.0～53.5

第1表の結果から各種皮コラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量とその T_s との関係を図示すると第1図の如くになる。

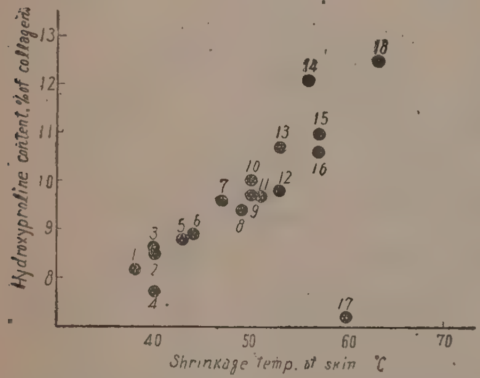


Fig. 1. Relation between hydroxyproline content and shrinkage temperature in collagen prepared from different animal skins.

Figures above or below the points correspond to the sample number in Table 1.

図に見る如く両者の間には直線関係が存在するようで，此等の標本相関係数を計算すると 0.93（危険率，1％）となり，明らかに両者に正の相関がある事が解る。

考　　察

魚皮コラーゲンは獣皮コラーゲンに比して熱[1)2)]，酵素[12)]，鞣剤[3)] 等に対し反応され易くこれを電子顕微鏡下にて見るとミセルの集合状態が前者の方が粗であるとのことである[13)]。此等両種のコラーゲンにこのような差異の生ずるのは前者が後者に比して分子間の水素結合が少いためであるといわれ，なおこの水素結合はペプチッド結合の間に作られていると考えられている[14)]。

然しコラーゲン分子間に水素結合がペプチッド結合に於いて生ずるという直接の証明はなく，又上記両種コラーゲンにペプチッド結合が同程度存在するにもかかわらず，それによる水素結合の生成に差異が何故に生じるかという事に対しても説明が与えられてない。

Klotz によるとハイドロオキシプロリンの OH 基はグルタミン酸の COOH 基とやゝ強固な水素結合を作り蛋白質を安定させるとの事であり，又このアミノ酸はその特殊な分子構造のためポリペプチッド鎖に折れまがりを作り分子構造の安定性に影響する事も考えられるもので，これ等の事を著者等が今茲に報告した結果即ち，各種動物皮を原料とするコラーゲンのハイドロオキシプロリン含有量がその各々の皮の熱に対する安定性に比例するという結果と併せ考えると魚皮コラーゲンと獣皮コラーゲンとに於ける分子間の粗密，従つてそれ等の性質の差異がハイドロオキシプロリンと他の或る種の側鎖との間に生ずる側鎖結合の多少に

よるものでありそうに考えられる。尚このようにハイドロオキシプロリンにより側鎖結合が出来るとこの結合の多いもの程ポリペプチッド鎖が接近せしめられ，従つて隣接したペプチッド結合の間により多くの水素結合が生じるとも考えられる。

なお最近 JACKSON (1953)[14] は腱の結締組織の基質であるコンドロイチン硫酸がこの組織の耐熱性に関係する事を認め，多分これはコンドロイチン硫酸がコラーゲンのポリペプチッド鎖の束を結合させているためであろうと述べている。従つて魚皮と獣皮との耐熱性の差異についてコンドロイチン硫酸の影響という事を考慮する必要もあると考えられる。又タラ皮コラーゲンのセリン及びスレオニンが牛皮コラーゲンのそれよりも多いという事[15] は検討されるべきものと思うが，少くとも本実験の結果からコラーゲンの分子間結合にハイドロオキシプロリンが重要な役割をなし，魚皮コラーゲンと獣皮コラーゲンとの性質（熱等に対する）の差異に重要な関係を有しているということがありそうに思われる。

尚金糸* が耐熱性が大である割合にハイドロオキシプロリンを少量しか含有しないということはこのものが多量のチロシンを含有するという土屋等[16] の結果と併せ考えると興味あることと思われる。

終りに臨み本研究に際し御助言を賜つた右田正男先生及び実験材料の採集に御助力を賜つた日本冷蔵株式会社中井逞氏に深謝の意を表す。

文　　献

1） 高橋豊雄，田中武夫：日水会誌，19，603 (1953).
2） K. H. GUSTAVSON：*Svensk Kemisk Tidskrift*, **63**, 70 (1953).
3） K. H. GUSTAVSON：*ibid.*, **54**, 74 (1942).
4） A. C. CHIBNALL：*J. Intern. Soc. Leather Trade's Chem.*, **30**, 1 (1946).
5） J. H. BOWES and R. H. KENTEN：*Biochem. J.*, **43**, 358 (1948).
6） Y. OKUDA：*J. Coll. Agric., Tokyo*, **5**, 355 (1916).
7） E. STIASNY："Gerbereichemie" (1931).
8） 高橋豊雄，横山和吉：日水会誌，20，411 (1954).
9） R. E. NEUMAN and M. A. LOGAN：*J. Biol. Chem.*, **184**, 299 (1950).
10） I. M. KLOTZ：(2) より.
11） 佐々木林治郎，佐藤　泰：昭和 27 年 6 月日本皮革研究会にて講演.
12） G. H. GUSTAVSON：*Svensk Kemisk Tidskrift*, **54**, 70 (1942).
13） G. C. NUTTING and R. BORASKY：*J. Am. Leather Chem. Assoc.*, **43**, 96 (1948).
14） D. S. JACKSON：*Biochem. J.*, **54**, 638 (1953).
15） R. E. NEUMAN：*Arch. Biochem.*, **24**, 289 (1949).
16） Y. TSUCHIYA and T. NOMURA：*Tohoku J. Agric. Res.*, **4**, 43 (1953).

* これを構成する蛋白質は在来 Elastoidin（土屋等はこれを Selachin と改称した）と称され，広義のコラーゲンに属するものと考えられている。

水産皮革の理化学的研究—XIII.
サメ皮の膨潤について（其の二）

高　橋　豊　雄
（東海区水産研究所）

日本水産学会誌
第二十巻 第十二号 別刷
昭和三十年四月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 12, April 1955

水産皮革の理化学的研究—XIII. サメ皮の膨潤について（其の二）

高橋豊雄
（東海区水産研究所）

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals—XIII. Swelling of Shark Skin (2)

Toyo-o TAKAHASHI

In the previous paper[1] it was reported that the shark skin in an acid solution swelled much more than the cattle hide. The present work deals particularly with the prevention of swelling and decomposition of the shark skin in the acid solution ; the shark skin swelling in an alkaline solution and the effect of liming on the swelling in the acid solution were also studied.

(1) Swelling and dissolution of the shark skin in an acid solution (pH 2) containing NaCl decreased with increasing amounts of NaCl. In the presence of NaCl of concentration higher than 2 % , the skin showed the same extent of swelling as in water, and a small amount of soluble nitrogen (1.3 % of total nitrogen of the skin) was detected.

(2) In the shark skin pretreated for 24 hours with more than 0.2 % formaldehyde solution, 20 volumes of the skin, the swelling degree did not increase in the acid solution.

(3) Stability of shark skin in about 10 % HCl solution was greatly increased by employing above 4 % NaCl in the acid solution or treating the skin with above 0.06 % formaldehyde solution, while a considerable amount of soluble nitrogen (2.5 % of total nitrogen of the skin with the formaldehyde treatment and 6—8 % with the NaCl addition) was determined.

(4) No definite effect of liming on the swelling of shark skin in the acid solution was observed.

(5) In $Ca(OH)_2$ solution, the swelling started to increase when PH values reached 9~10, the maximum swelling being observed at a pH value of about 11.5. In NaOH solution, the swelling abruptly increased at a pH value of about 11. The skin swelled in NaOH solution much more than in $Ca(OH)_2$ solution with the same pH values of above 11.

1) TAKAHASHI : *Bul. Jap. Soc, Sci. Fish.*, **19**, 1203 (1954).

序論

皮の膨潤は，製革作業等に深い関係のあるものであるが，著者[1]は，先に，サメ皮の酸膨潤を研究し，サメ皮が牛皮に比して遥かに酸膨潤し易く，pH 1~3 の範囲にては，膨潤するのみならず，皮質が解膠，溶解し，特に pH 2 附近にて，著しいことを認めた。

製革操作に於いては，皮を酸性溶液に浸漬する必要がしばしばあるが，その際，皮質の溶解は勿論のこと，過度の膨潤も避けなければならない。従つて，上記のように，酸性溶液中にて容易に膨潤し，解膠するサメ皮は，これを酸性溶液に浸漬する際には，是非ともその膨潤，解膠を阻止するような手段を講じることが必要である。

なお，皮は pH 0.2 以下になると，膨潤することなしに分解するが，サメ皮にては，脱鱗を目的として，このような濃度の酸液に浸漬することがある。この際，どのようにして皮質の分解を阻止するかということは，サメ皮製革上重要なことである。

1955 年 3 月 31 日 受理（印刷費負担） 東海区水産研究所業績第 202 号

著者は「サメ皮の膨潤について」の「其の二」として，先ず，上記のような酸膨潤及び酸分解の阻止ということを調べ，次に，製革予備作業として重要な石灰漬作業がサメ皮の酸膨潤に如何に影響するかを検し，最後に，皮の膨潤として，酸膨潤と共に当然考えられるアルカリ膨潤について，一応調べた。

実　験 I.　サメ皮の酸膨潤及び酸分解の阻止について

製革作業に於いて，皮が酸によつて過度に膨潤するような場合，これを阻止するためには，通常塩類をその溶液に加えている。滲酸液*に於ける食塩は，この好い例であり，一浴クロム鞣液に於ける硫酸ソーダ（或るいは食塩），二浴クロム鞣の第一浴に於ける食塩（或るいは過剰の重クロム酸塩）もまた皮の過度の膨潤を阻止する役目をしている。なお，サメ皮の脱鱗作業に於いて，塩酸に食塩を加え，或いは，予め皮を鞣剤にて処理するのは，皮の酸による分解を防ぐためである。

著者はこれらのことについて種々調べたが，先ず，食塩による酸膨潤及び酸分解の阻止についての実験結果を報告する。

（1）　酸性溶液に食塩を添加する効果

越智[2]はサケ皮の浸酸処理を研究し，サケ皮の半截皮を 25 cc の硫酸溶液に浸漬（16°C，2 時間）する際に，硫酸の濃度が 0.05～0.5 N の範囲にては，食塩を 5 g 以上加えると，皮を良好な状態に保つことができたと報告し，又，清水[3]はサメ皮の脱鱗作業を研究し，サメ皮 5 g を，食塩 2.92 g を含有する 2～3.6 N の塩酸 50 cc に 10 分間（30° C 以下）浸漬しても，皮は外観上何等の損傷も認めなかつたと報告している。なお，最近大城[4]はツマジロザメ皮を用い，塩酸脱鱗を研究し，塩酸溶液に 3～4 % の食塩を加えると，サメ皮の酸膨潤が阻止できることを認めている。

著者はサメ皮の浸酸及び脱鱗作業の基礎試験として，サメ皮の酸膨潤及び酸分解が食塩によつて如何に防止できるかを知るため，次の二種類の実験を行つた。その一つは pH 2 附近に現われるサメ皮の大なる膨潤が食塩の共存によつて，どのように変化するかを調べ，他の一つは，サメ皮の脱鱗作業に通常用いられる 10 %程度の高濃度の塩酸液中に於けるサメ皮の分解が，食塩によつてどのように防止できるかを実験した。

在来，この種の実験は，処理した皮の外観，膨潤度，重量変化等を調べているが，著者は膨潤度（当初の重量を 100 とした重量変化）を測定すると共に，その際の溶出窒素量を測定して皮の分解程度を調べた。

a）　食塩を含有する pH 2 の塩酸溶液に於けるサメ皮の膨潤

先ず，種々の濃度の食塩溶液にサメ皮を 20° C にて，48 時間浸漬し，次に，この塩皮をそれぞれ同濃度の食塩を含有する pH 2 前後の塩酸溶液に一定時間浸漬し，この間に於ける皮重量の変化及び可溶性窒素の溶出状態を検した。

上記のように，皮を予め食塩溶液に浸漬し，それを塩酸・食塩混合液に浸漬したのは，もしも，皮を直接塩酸・食塩混合液に浸漬すると，この際塩酸と食塩とが同一速度，或るいは食塩が先に皮に浸透すれば問題は生じないが，もしも，塩酸が先に滲透すると，皮は当然浸漬の初期に於いて大なる膨潤を生じ，時には皮質が分解するとも考えられるので，予め，前記のように塩漬を行つた。サメ皮の脱鱗作業に於いては，このような予備的な塩漬が一般に行われている。

食塩溶液に浸漬した際のサメ皮の重量変化：　上記のような目的にてサメ皮を種々の濃度の食塩溶液に浸漬したが，その実験方法及び結果は，次の如くである。0～30 % の種々の濃度の食塩溶液 1 l に 4 cm^2 大のヨシキリザメ（*Prionace glauca*）皮 10 枚（合計 12～13 g）を 20° C にて 48 時間浸漬し，この際の重量変化を検した。

なお，0～2 % 濃度の食塩水についても同様の実験を行つた。これら両実験の結果は，第 1 図 A，B の如くである。

図に見る如く，食塩の比較的低濃度（1～5 %）に於いて，皮は最高の重量をしめし，その後，食塩濃度が 10 % までは，急激に減少するが，その後は余り変化なく，塩漬前の重量と大約同様の重量をしめした。

このように，予め塩漬した皮の重量を基準として，酸液に浸漬した後の皮重量の変化を調べた。

食塩を 0～30 % 含有した pH 2 の塩酸溶液についての実験：　前記のように，予め種々の濃度の食塩溶

* クロム一浴鞣の予備処理に用いる酸と食塩の混合液

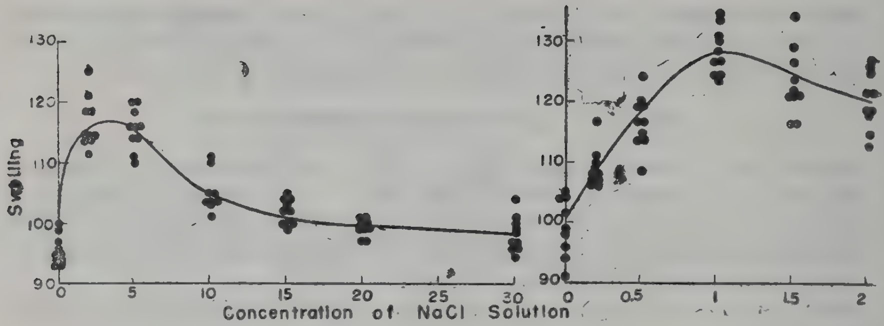


Fig. 1. Swelling of shark skin in NaCl solution.

液に浸漬した皮を，おのおの，同濃度の食塩水 400 cc に 1N 塩酸溶液 4 cc を添加した液に浸漬し，20°C にて，24 時間放置した後，皮重量の変化及び溶出窒素量を検した。

先ず食塩濃度 0，2，5，10，15，20 及び 30 % のものについて実験を行つた。その結果は次の如くである。

食塩を含有しないものは，著しく膨潤し，膠化分解したが，2 % 以上食塩を含有するものは，外観及び重量に殆んど変化が認められない。溶出窒素量も，塩酸のみのものは，多量（皮の全窒素に対し約 7.5 %）に現われたが，食塩を含有する場合には，僅かに 0.3～0.5 %（全窒素に対し）程度である。各溶液の pH 価（浸漬処理後）は，食塩が濃厚になるにつれて，やゝ低下（pH 3→2）した。

食塩を 2 % 以下含有した pH 2 の塩酸溶液についての実験： 前実験のようにサメ皮は，2 % 以上の食塩が含有されている pH 2～3 の塩酸溶液中に於いて，安定であるということが解つたので，次に，食塩を 2 %以下含有した pH 2 の塩酸溶液について実験した。

実験方法は前同様であり，その結果は第 2 図の如くである

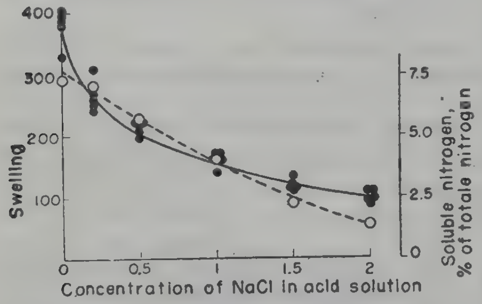


Fig. 2. Effect of NaCl upon the swelling and dissolution of shark skin in HCl solution (pH 2).
●…swelling, ○…soluble nitrogen.

図に見る如く，食塩を含有しない場合には，300～400 の膨潤度を示したが，食塩濃度の増加と共に膨潤度は低下し，2 % の食塩を含有する場合には，殆んど，重量の変化は認められなかつた。食塩を含有しない場合，溶出窒素量は全窒素に対し 7.5 % であつが，膨潤度と同様に，食塩の濃度の増加と共に減少し，食塩濃度 2 %にては 1.3 % となつた。なお，食塩・塩酸混合液の pH 価は，大約 2.3～2.4 であつた。

前記二実験の結果から考えると，pH 2～3 の塩酸溶液にては 2 % 以上の食塩が共存すれば，これにヨシキリザメ皮を 20°C にて，24 時間浸漬しても，殆んど膨潤しない。なお，皮質の分解（溶出）は，このように食塩が含有されていても多少生じるようである。

b) 食塩を含有する 9.5% 塩酸に於けるサメ皮の行動

サメ皮は脱鱗を目的として，10 % 程度の濃厚塩酸に浸漬，処理されることがあるが，このような塩酸液に何等の処理も行わずにサメ皮が浸漬されると，既に述べたように[1]，サメ皮は著しくその皮質が侵される。一般にはこの皮質の分解を防ぐため，塩酸液に食塩が加えられる。著者は脱鱗作業の基礎実験として，このような高濃度の塩酸溶液中に於ける皮質の安定に対する食塩の効果を確めるため次のような実験を行つた。即ち前同様にヨシキリザメ皮を種々の濃度の食塩溶液（300 cc）に浸漬し，24 時間後，これら食塩液に濃塩酸

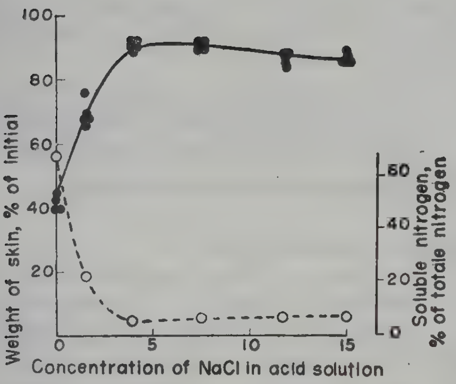


Fig. 3. Effect of NaCl upon the decomposition of shark skin in concentrated HCl solution (9.5 %).
●…weight of skin, ○…soluble nitrogen.

100 cc を加え，再び 24 時間（20° C）放置し，この間に於ける皮の重量変化及び溶出窒素量を検した。得た結果は第3図の如くである。

図示の如く，食塩を含有しない 9.5 %（2.8 N）塩酸溶液にサメ皮を 20° C にて 24 時間浸漬すると，皮の重量は浸漬前の 40～45 % に減少し，溶出窒素が著しく多量に生じ，皮の全窒素の約 70 % にも達する。然るに，食塩が 4 % 程度加えられると，皮重量は浸漬前の 90 % 程度になるのみである。なお，食塩が 4 %以上になつても重量の変化には変りがない。溶出窒素量も大約同様の傾向を表わし，食塩が 4 %前後までは食塩濃度の増加と共に減少し，その後一定となる。然し，溶出窒素量は前実験の pH 2 の場合に比して遙かに大で，15 % 程度の食塩が共存しても，20° C，24時間に皮の全窒素の約 8 % 程度の窒素が溶出した。

pH 2 附近の塩酸溶液中にては，食塩が 2 % 以上存在すれば，皮は膨潤せず，皮質はかなり安全であつたが，上記の如く 10 % 程度の塩酸溶液にては，食塩が 4 %存在すると，皮重量の減少は殆んどなく，外観も変化しないが，可溶性窒素は，更に多量の食塩が存在しても，多量に生じ，皮質がかなりに侵されていることが解る。

従つて，サメ皮の脱鱗を 10 % 程度の塩酸溶液にて行う場合には，少くとも 4～6 % の食塩を共存させる必要があり，なお，このようにしても，上記のように相当多量の皮質が分解溶出する故に，浸漬時間，温度等を充分注意することが必要であろう。

本実験にては，表皮附のものを試料として用いているので，この際生じる溶出窒素が革に必要な真皮以外から由来することも考えられ，もしもそうであるならば，脱鱗作業にとつて都合のよいことであるので，この点を確かめてみた。サメ皮の表皮をうすくすき取り，このようにして分けた真皮だけのものと表皮附の真皮とを前記と同様に実験（食塩含有量 10 %）した。その結果によると真皮のみの場合にも 5 %程度（全窒素に対し）の窒素が溶出し，表皮つきのものは約 11 % 溶出した。このように食塩を含有する濃厚塩酸中にサメ皮を浸漬すると，表皮つきのものの方が真皮のみのものよりも多いということは，この際の溶出窒素のうちの多くのものが表皮組織及び鱗に由来するというようにも考えられるが，真皮層のみからも相当多量の窒素が溶出し，又表皮附のものから多いのは，表皮組織及び鱗によるのではなく，銀面（真皮層の表面）直下の真皮層に由来するとも考えられるから，濃厚塩酸にてサメ皮を処理する際には食塩が含有されている場合にも充分注意して処理すべきである。

（2） サメ皮を予めフォルムアルデヒィドにて処理する効果

サメ皮の鱗を酸にて除去する際に，その皮質の分解を防ぐためには，実験（1）の如く酸性溶液に食塩を加える方法があるが，一方，予め皮質を適当の薬品にて処理し，酸に対する安定性を皮に与えてから，酸にて処理する方法がある。植物タンニンにて鞣した革を酸にて脱鱗する方法がこの種の方法の代表的のものである。著者もこれについて二，三実験したが，その結果は，後刻報告する予定である。

植物タンニンにて鞣製後酸処理する方法は，植物タンニン鞣革を目的とする場合には適当であるが，他の種類の鞣革，例えばクロム鞣革を目的とする時は，この方法を用いることはできない。

久しい以前に，深川[5]が発明，特許を受けたフォルムアルデヒィド（H•CHO）を塩酸及び食塩と併用する方法のようなものは，クロム鞣革を目的とする場合にも使用しうるものと考えられる。事実，優良な鮫クロム鞣革を戦後に製造していた或る工場にては，この種の方法を用いていたようである。このように，H•CHO にてサメ皮に安定性を与える方法は，特許法もあり，又実用もされていたようであるが，これについての研

究結果の発表されたことはないようである。この点について著者は次のような二，三の実験を行つてみた。

即ち，種々の濃度の H•CHO 溶液にサメ皮を浸漬処理した後，この皮をサメ皮脱鱗に通常用いられる 10 %程度の濃厚塩酸液に浸漬し，その際の可溶性窒素量を測定し，その分解程度を検した。なお，H•CHO 処理皮の PH 2 の塩酸溶液に於ける酸膨潤についても測定した。

5 g 前後のヨシキリザメ皮を秤量し，この8枚ずつを1組とし，5組を作り，その各々を 0.02~0.2 % の H•CHO 溶液（約 20° C）400 cc に浸漬した。なお，一組は対照として，水に浸漬した。24 時間後皮を取り出して，重量を測定した。秤量後，皮は各組とも，10 % 塩酸溶液（100 cc）及び pH 2 の塩酸溶液（500 cc）に半数ずつ浸漬した。液温は両者とも約20° C であつた。24時間後，皮重量及び溶出窒素量を測定した。

a） **フォルムアルデヒド処理皮の酸分解**

10 % 塩酸溶液に於ける皮重量の変化及び溶出窒素量は第4図の如くである。

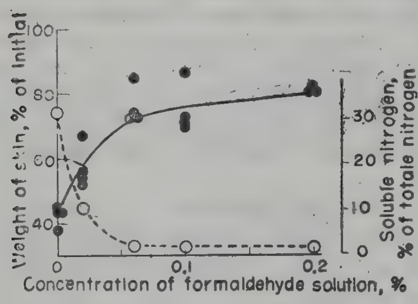


Fig. 4. Effect of the formaldehyde treatment upon the decomposition of shark skin in concentrated HCl solution (10 %). ●…weight of skin, ○…soluble nitrogen.

図の如く，ヨシキリザメ皮約 22 g を 0.06 % H•CHO 400 cc にて処理すると，この皮は約 10 %の塩酸溶液（約 20° C, 24 時間）に対し比較的安定になる。然し，本実験に用いた程度の濃度の H•CHO にて皮を処理しても，皮からの窒素化合物の溶出は，なお比較的多量（皮の全窒素に対し約 2.5%）に認められた。1.0 %濃度の H•CHO についても実験したが，同程度の窒素の溶出が認められた。

この際溶出する窒素の由来について，実験（1）と同様に調べてみたが，この際の溶出窒素も実験（1）の食塩添加の場合と同様に，真皮に由来するものが相当多量に含くまれている。

H•CHO にて処理しない対照皮は，10 %塩酸溶液にて収縮し，抗張力は殆んど皆無となる。0.02 % の H•CHO 溶液にて処理したものは，10 %塩酸溶液中にて収縮しないが，抗張力は低下した。0.06 %の H•CHO にて処理したものは，抗張力も殆んど変化しなかつた。このような抗張力の変化は第4図の可溶性窒素量の溶出状態と関連するように思われる。

余り明瞭な結果ではないが，サメ皮のコラーゲン 100 g 当り H•CHO 0.7 g 弱が結合すると，その皮は 10 %塩酸に対し安定になるようである。

b） **フォルムアルデヒド処理皮の酸膨潤**

前記の如く，H•CHO 処理皮を pH 2 の塩酸溶液に 24 時間（22° C）浸漬した。酸に浸漬する前の H•CHO 処理皮の重量を基準として，酸にて処理した後の重量を測定し，常法の如く膨潤度を求めた。H•CHO 処理皮を 24 時間浸漬した後の各塩酸溶液の pH 価は，2.4~2.6 であつた。

このようにして得られた結果は第5図の如くである。

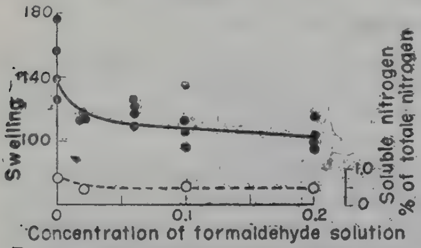


Fig. 5 Swelling and dissolution of shark skin treated with formaldehyde in HCl solution (pH 2). ●…swelling, ○…dissolution.

図の如く，0.2 % H•CHO 溶液にて処理したサメ皮は，pH 2.4 の塩酸溶液にて，殆んど酸膨潤を表わさない。

実験 II，酸膨潤に対する石灰漬の影響

長期間石灰漬を行つてもコラーゲンは溶解しないが，ゼラチン化しやすくなり[6] 皮の機械的強さが弱くなり，石灰漬したサメ皮は酸脱鱗する際に酸によつて侵され易くなるとのことである。又サメ皮の熱収縮温度は石灰漬によつて低下する[7]。なお Bowes 等によると牛皮をアルカリにて予備処理すると，その膨潤が

広範囲の pH 価に亘つて促進されるとのことである。

第9報[1] に述べたように，サメ皮は牛皮に比し，遙かに膨潤し易いが，このようなサメ皮の酸膨潤が石灰漬によりどのように影響されるかにつき，次のような実験を行つた。水洗したヨシキリザメ皮を1%水酸化カルシューム液に 20°C にて8日間浸漬し，次に流水及び1%硫酸アンモニウム溶液にて脱灰し，再び水洗した。このように石灰漬，脱灰した皮を pH 3.4 及び 3.9 の塩酸液に 20°C にて 48 時間浸漬し，その酸膨潤度（石灰漬前の水洗皮の重量を基準とした）を調べた。その結果は第6図の●印である。尙石灰漬以外全く同様に行つた対照試験の結果は同図の○印である。

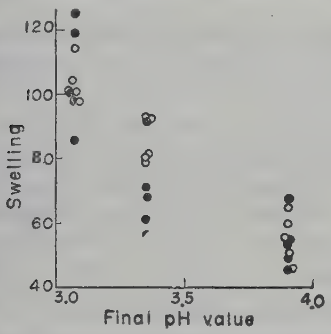


Fig. 6. Effect of liming on the swelling of shark skin in acid solution.
●…treated with 1% lime liquor at 20°C. for 8 days, ○…non liming.

図に見る如く，著者の得た本実験の結果からはサメ皮の酸膨潤に対する石灰漬の効果は，正負いずれとも不明である。

なお，pH 3.4 及び 3.9 の塩酸溶液に浸漬したものは，基準とした石灰漬直前の皮に比して，むしろ脱水しているが，これは石灰漬後の脱灰過程中に皮がかなり脱水されることに原因するもので，酸に浸漬する直前の重量を基準とすれば，これよりも遙かに大きな膨潤度をしめす。

実　験　III.　アルカリ性側に於けるサメ皮の膨潤

牛皮は pH 4～7 にて最少の膨潤をしめし，pH 2.5 にて最大膨潤をしめすと共に，pH 12 附近にても最大膨潤を現わすとのことである[8),9)]。

石灰漬の水酸化カルシューム液，及びホルマリン鞣液等はアルカリ性であり，従つて，これらの液中にては，皮は原皮よりも大なる膨潤をしめす。これらの液中に於ける皮の膨潤の多少は，その皮と鞣剤との反応に重要な関係があるが，魚皮についてアルカリ性側の膨潤を研究したのは，越智[2)] がサケ皮について一応研究している程度である。

著者は水酸化カルシューム及び苛性ソーダ溶液を用い，サメ皮のアルカリ性側に於ける膨潤をやゝ詳細に調べた。

（1）　水酸化カルシュームによる膨潤

水洗したヨシキリザメ皮から 4 cm^2 大の試料を切りとり，8枚を1組ずつとし，各種濃度の水酸化カルシューム溶液 1 l ずつに浸漬（液温 18～20°C，防腐剤を加えた）し，1，2，3 及び4日後に皮の重量変化及び液の pH 価（水素一甘汞電極を用いた）を測定した。なお，これらを測定するたびごとに液を新にし，当初の濃度になるようにした。

得た結果は第7図の如くである。

図示の如く，水酸化カルシューム溶液中にてはヨシキリザメ皮は，pH 9～10 にて膨潤を増加し始め，pH 11.5 附近にて最大膨潤を現わす。これらの膨潤は比較的短時間にて平衡に達し，又その膨潤度は比較的

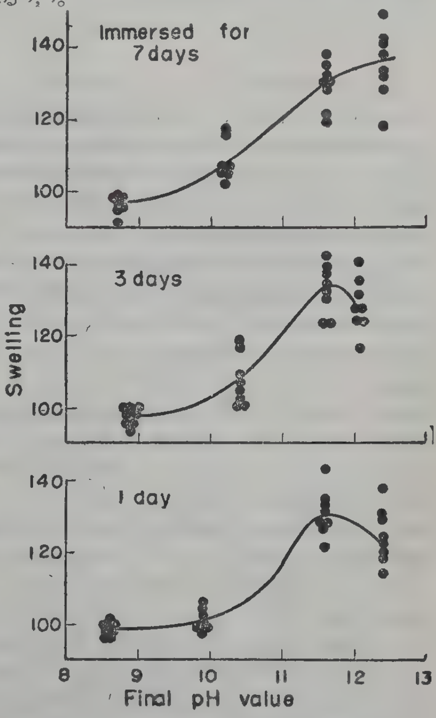


Fig. 7. Effect of pH value of lime liquor upon the swelling of shark skin.

小で，最大膨潤点に於いてすら僅かに 140 程度である。

（2） 苛性ソーダによる膨潤

FRITSCH[10] によると，苛性ソーダは水酸化カルシュームよりも牛皮を烈しく膨潤させるとのことである。著者はサメ皮についてこの点を調べた。

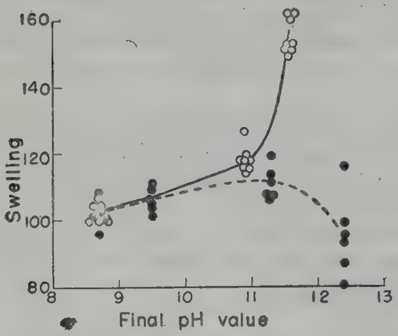


Fig. 8. Effect of pH value of the different alkalin solutions upon the swelling of shark skin. ●…in lime liquor, ○…in NaOH solution.

試料は前実験（1）と同様のものを用い，これを pH 9〜12.5 の苛性ソーダ溶液に浸漬（24 時間，19〜22.5° C）した後，その膨潤度を測定した。得た結果は第 8 図の如くである。

即ち，pH 11 以下に於いては水酸化カルシュームの場合と余り変らないが，pH 11 以上になると，急激に膨潤が増大した。

このように水酸化カルシューム溶液中に於ける生皮の膨潤が同一 pH 価の苛性ソーダ溶液中に於ける場合よりも小であるのは DONNAN の膜平衡の理論にて説明できないことであつて，OH イオンの外に陽イオンの影響が膨潤に対して影響のあることをしめすものである。

上記の諸結果から，サメ皮のアルカリ性側に於ける膨潤は，牛皮の場合と殆んど差異がないといえるようである。

考　　察

先に報告[1] したように，サメ皮は酸性溶液中 pH 2 附近にて著しく膨潤，解膠し，更に pH 価が低下すると，一度安定となるが，pH 0.2 以下のような濃厚酸液中にては，再び皮質は不安定となり，分解，溶解する。然るに実験（1）に見る如く，比較的稀薄な塩酸溶液にても，又濃厚な塩酸溶液に於いても，ある濃度以上の食塩が共存すると，これらにサメ皮が浸漬されても安定である。このような皮質に対する食塩の安定効果の原因は塩酸溶液の濃厚な場合と稀薄な場合とで異るように考えられる。この点二，三考察してみた。

著者は高濃度塩酸による皮質の分解溶出には，加水分解作用が関係しているのであろうと，先に[1] 推論したが，このような高濃度塩酸中にて皮質の分解が比較的低濃度の食塩にて阻止されるのは，どのような理由によるのであろうか。

高濃度塩酸溶液中に皮が浸漬されると，先ず著しい収縮が生じ，次に溶解が生じるようである。然るに食塩が共存すると，このような収縮がおこらない。従つて，食塩が高濃度塩酸溶液中にて皮を安定にさせているのは，この際に於ける皮質の変性の第一階段とも考えられる収縮を阻止することによるものと思われる。高濃度の塩酸による皮の収縮は塩酸の分子効果によるコラーゲン分子の側鎖結合の開裂によるものと考えられている[11]，このことから考えると，高濃度の塩酸中に於いて，食塩はコラーゲン分子の側鎖結合の開裂を防いで，皮を安定にさせているように思われる。

次に，比較的低濃度の塩酸溶液中に於ける皮の酸膨潤を阻止する食塩の効果は，一般に[12] DONNAN の膜平衡の理論にて説明されているが，この他この効果の原因となりそうなものについて，二，三考察してみた。

先ず，食塩が塩酸溶液中に共存する際には共通イオンの影響にて，多少とも pH 価が増大し，これによつて酸膨潤が低下するということも一応考えられるが，pH 2.41 の塩酸溶液に食塩が 2 %（酸膨潤が完全に阻止される濃度）添加されても，PH 2.48 になる程度であつて，従つて，食塩による酸膨潤の低下は，食塩による pH 価の低下とは無関係である。次に，食塩による脱水ということが酸膨潤の阻止ということと関係ありそうにも考えられるが，前記の如く（実験 1 の a），2 %程度の食塩水中にてはサメ皮は殆んど脱水されず，又著者の実験は，予め塩漬した皮を塩酸・食塩混合液に浸漬し，塩漬皮重量に対する浸酸皮重量の変化を測定したのであるから，著者の実験結果に於いては食塩による脱水ということは影響しない。

なお，前記のように，濃厚塩酸の場合には，4％程度の食塩が共存すると，これに浸漬されたサメ皮のコラーゲン分子間の側鎖結合の開裂が防がれて，皮が安定になるようであり，従つて，サメ皮の酸膨潤を阻止する場合の食塩の効果もコラーゲン分子の鎖側結合と関係ありそうにも思われるが，然し一方 2～4 ％程度の食塩水中にてはサメ皮コラーゲン分子の側鎖結合は弱まるようである[13]から，酸膨潤に対する食塩の阻止効果の原因が側鎖結合に対する食塩の直接の強化作用ではないようにも思われ，食塩の酸膨潤阻止と食塩の側鎖結合に対する作用との関係については現在何んともいえない。

かくして，酸膨潤の阻止に対する食塩の効果については，Donnan の膜平衡による以外に適当のものを見い出すことはできなかつた。

サメ皮の酸分解に対するH•CHO の阻止効力は，H•CHO によるコラーゲンの分子間結合の強化によるものであろう。而して，皮のコラーゲンが H•CHO にて強化されると同様に，鱗のオゼインも強化されるようで，余り濃い H•CHO にて処理すると，塩酸処理する際，鱗がとれ難くなる。本実験の条件下にては，0.1 ％H•CHO 溶液にて処理したものが，皮も安定であり，脱鱗も比較的容易であつた。

なお，前記のように，酸膨潤に対する石灰漬（アルカリ処理）の影響に関しての著者の結果は，Bowes 等の結果と異つて，影響が不明瞭であつた。これは氏等の用いたアルカリ性溶液が 0.4 ％ の水酸化カルシュームを含有した 0.2 N の苛性ソーダ溶液（pH 13.3）であるのに反し，著者の用いたものが 1 ％水酸化カルシューム懸濁液（pH 12.4）であるという事の差異が原因のように思われる。

結 果 の 要 約

（1） pH 2 附近の塩酸溶液中に食塩を添加すると，その溶液中に於けるサメ皮の膨潤及び溶出窒素量は，食塩濃度の増加と共に低下する。2％以上の食塩が共存すると，殆んど生皮と同程度の膨潤度をしめし，食塩を含有しない場合，皮の全窒素に対し 7.5 ％ 程度の可溶性窒素が生じるが，2 ％以上の食塩が共存すると，0.5～1.3 ％ 程度に減少する。

（2） 9.5 ％（2.8 N）塩酸溶液に於いては，4 ％以上の食塩が共存すると，サメ皮は安定になる。然し 20°C，24 時間にて，6～8 ％（全窒素に対し）程度の可溶性窒素が生じる。

（3） サメ皮を 20 倍量の 0.06 ％以上のフェルムアルデヒィド溶液にて処理すると，10 ％塩酸に対して安定になる。然しなお相当多量（全窒素に対し約 2.5 ％）の可溶性窒素が認められる。

（4） サメ皮を 0.2 ％以上のフォルムアルデヒィド溶液（20 倍量）にて処理すると，pH 2.4 の塩酸溶液中にて殆んど酸膨潤をあらわさない。

（5） サメ皮の酸膨潤に対し，この皮を予め石灰漬したということの効果は不明である。

（6） サメ皮は水酸化カルシューム溶液中にて pH 価が 9～10 になると，膨潤を増大し始め，pH 11.5 附近にて最大膨潤を表わす。苛性ソーダ溶液にては，pH 11 附近より急激に膨潤を増大し，前者に比し遙かに大なる膨潤を表わす。

終りに臨み，本研究に対し御助言を賜つた右田正男先生に深謝の意を呈す。

文 献

1） 高橋豊雄： 日水会誌，**19**，1203（1954）.
2） 越智通秋： 水産学雑誌，**36**，101（1933）.
3） 清水 誠： 東工学報，**8**，370（1939）.
4） 大城善太郎： 鹿児島水産専門報告，**1**，94（1950）.
5） 深川庫造： 特許，128677（1932）.
6） 高野喜久男： 日水会誌，**10**，79（1941）.
7） 高橋豊雄： 日水会誌，**19**，603（1953）.
8） J.H. Bowes & R.H. Kenten： *Biochem. J.*，**43**，365（1948）.
9） J.A. Wilson： & A.F. Jr. Gallun： *J. Ind. Eng.* Chem.，**15**，71（1923）.
10） A. Fritsch： *J. Am. Leather Chem. Assoc.*，**23**，655（1938）.
11） K.H. Gustavson： "Advances in Protein Chemistry"，**5**，303（1949）.
12） 例えば……清水 誠： 月刊皮革，**3**，27（1950）.
13） 高橋豊雄，田中武夫：日水会誌，**19**，193（1953）.

水産皮革の理化学的研究—XIV.
濃塩酸によるサメ植物タンニン鞣革の品質低下

高 橋 豊 雄
(東海区水産研究所)

日 本 水 産 学 会 誌
第 二 十 巻 第 十 二 号 別 刷
昭和三十年四月二十五日発行

Reprinted from Bulletin of
the Japanese Society of Scientific Fisheries
Vol. 20, No. 12, April 1955

水産皮革の理化学的研究—XIV.
濃塩酸によるサメ植物タンニン鞣革の品質低下

高 橋 豊 雄
(東海区水産研究所)

Physico-Chemical Studies on the Skin and Leather of Marine Animals—XIV.
Degeneration of the Vegetable Tanned Shark Leather due to HCl

Toyo-o TAKAHASHI

Degeneration of the vegetable tanned shark leather which occurs when treated by HCl for the purpose of removing the placoid scales, an obstacle if remained on the leather has been studied along with other behaviors of the products, The results obtained are shown in Tables 1—5 and can be summarized as follows.

(1) Treating the vegetable tanned leather of shark with concentrated HCl (about 10%) at 40—50 °C. for 30 mins. did not always affect the appearance of the leather, while invariably decreased the hydrothermal shrinkage temperatuer (Ts) to some extent. The lowering of Ts varied depending on the conditions of tannage and HCl-treatment (Tables 1—3).

(2) For removal of the placoid scales, NaCl is usually added to the HCl solution at shark leather tanneries so as to increase stability of the leather. But, in the present work, the preventive action of NaCl on the lowering of Ts of the leather due to HCl was not observed.

(3) When the leather was neutralized after treating with concentrated HCl and retanned for a short period, increases both in the Ts and in combined tannin of the leather were found rather remarkable.

サメ皮には革として都合の悪い楯鱗があるので，これを除くため，濃塩酸にて脱鱗処理が行われる。生皮についてこのような塩酸処理を行うことは，先に著者[1]も報告したように，皮質の損傷が生じ易いので，一般には皮を鱗つきのまゝ鞣製し，革となした後，酸処理して，脱鱗を行つている。クロム鞣革は酸で侵されるため，植物タンニン鞣したサメ革について酸脱鱗が行われている。[2]

然し，植物タンニン鞣革についての酸脱鱗に於いても，その処理条件によつては革が損傷されることもある。この点について今迄にも研究した人[3]はあるが，この人々は，酸にて革が侵されたということを革の外観に損傷が生じたか否かということを目安とし，外観上に損傷の現われない場合にどのような影響があつたかということは考えていなかつた。

Hobbs[4]は酸を含んだ牛植物タンニン鞣革が長期間放置されると，この革の熱収縮温度(以下 Ts と略記)が低下することを見ている。元来，鞣剤が皮を鞣す際の主要な仂きは，その皮のコラーゲン分子間に橋状結合を作り，皮の安定性を増大することであるようである。又，先にも述べたように，皮の Ts はその分子間橋状結合の多少及び強弱を推測させるものである。このようなことから考えると Hobbs の革が Ts を低下させたのは，酸により革のコラーゲンが分解し或いはコラーゲンとタンニンとの結合が切れたことをしめすもので，従つて革の品質低下を意味するものと思われる。このような品質低下は，在来の簡単な外観検査や化学成分の分析では知ることは困難であろう。サメ革の酸脱鱗の場合には，例え短時間であつても，比較的濃厚（10～15%程度）な塩酸で，比較的高温度（40～50°C）にて処理するのであるから，外観上損傷のない場合にも革の品質が相当に低下することが考えられる。そしてこの品質の低下は多分前記のようなコラーゲンの分解，或るいはタンニンとコラーゲンとの結合の開裂によつて生ずるものと想像される。もしも，こ

1955 年 3 月 31 日受理（印刷費負担）東海区水産研究所業績 B 第 203 号

れらの考えが正しければ，酸処理による革の Ts の変化を調べることによつて，酸による革の品質低下の状態を知ることができると思われる。

著者はこのように考えて，サメ植物タンニン鞣革の濃塩酸による品質の低下を Ts を指標として調べた。

試料の調製

ヨシキリザメ（*Prionace glauca*）皮の表皮をすきとつた真皮層を 10～15°C にて3日間，0.3% 水酸化カルシューム液にて石灰漬した後，数時間水洗し，次に 0.5% 硫酸アンモニゥム溶液に一夜浸漬，脱灰し再び数時間水洗した。このように精製した真皮（Ts…49.2°C）を cutch, wattle, sulfited quebracho, myrobalans 等の植物タンニン剤の溶液（皮の 12 倍量）におのおの浸漬し，次第に濃度を高めながら鞣製した。即ち，先ず1％タンニン液に 20 日間，次に2％液に 40 日間，最後に4％液に 40 日間浸漬した。この間，液温は約 20°C，液の pH 価は苛性ソーダ或いは醋酸にて 4.5～5.0 に調節した。なお，myrobalans 液はその果実を抽出，調製し，実験の都合上その濃度を測定しなかつたので，これを用いて鞣製を行つた際にはたゞ比較的薄い液から濃い液に移すというような方法で行つた。

このような各種植物タンニン剤の各種濃度にて鞣製した革を充分に流水にて水洗し，非タンニン分をのぞき，これらを実験材料として用いた。

鞣液濃度と革の Ts 及び結合タンニン量との関係： 上記の試料については Ts（著者の常法によつて測定した。即ち殆んど荷重を加えることなしに革を水中に懸垂し，水温を次第に上昇させ，革が収縮し始める時の温度を測定し，その革の Ts とした。及び結合タンニン量（コラーゲンに対する%……以下，Tc と略記。通常鞣製度の指標として用いられる。)を測定した。これらの値は以下の諸実験に就いて述べる。なお，これら試料の鞣製度が本実験条件下にて達せられる最高の鞣製度に対しどの程度であるかを知りたいと考え，鞣液の濃度と得られた革の Tc(及びTs)との関係を調べてみた。それら結果を図示したものが第1図及び第2図である。

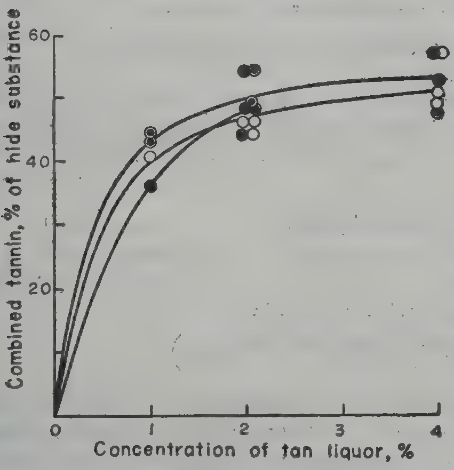


Fig. 1. Effect of the concentration of tan liquor on the tannin fixation of shark leather.
●…tanned with quebracho extract,
○…with wattle bark extract,
◉…with cutch extract.

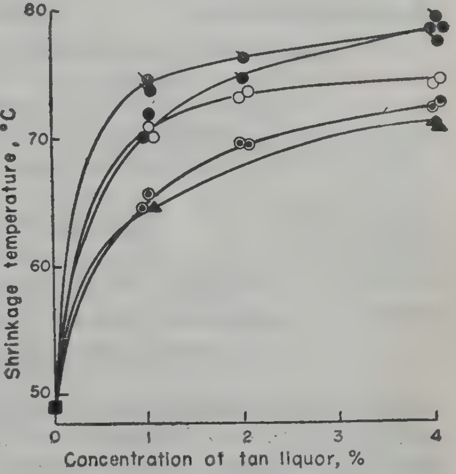


Fig. 2. Effect of the concentration of tan liquor on the hydrothermal shrinkage temperature of shark leather.
● and ●…tanned with quebracho extract,
○…with wattle bark extrct,
◉…with cutch extract,
△…with chestnut bark extract,
■…green shark skin.

図の如く，使用したすべての植物タンニン剤に於いて，革の Ts 及び Tc は共に 2～3%の比較的低濃度

にて，殆んど最高値（本鞣製条件下に於ける）が得られているようである。この際に於ける cutch, wattle 及び sulfited quebracho 鞣革の Ts は 70～75°C, Tc は 45～50% である。

皮の Ts と Tc の関係： Ts を革の鞣製度或るいは品質の指標とする方法の一つの裏づけとして，上記の各種サメ植物タンニン鞣革について Ts と Tc との関係を調べた。その結果は第3図の如くである。

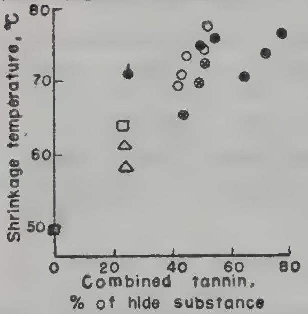


Fig. 3. Relation between the combined tannin and shrinkage temperature of shark leather.
■…green shark skin
△…tanned with myrobalans extract,
□…with chestnut bark exract,
●…with sulfited quebracho(A),
…with sulfited quebracho(B),
○…with wattle bark extract,
⊗…with T-cutch extract,
◉…with R-cutch extract.

図に見る如く，Ts と Tc との間には植物タンニン剤の種類の如何にかかわらず，大約ながら直線関係があるようであり，従つてこの結果からも Ts を鞣製度，したがつては革の品質の指標として用いることができそうに思われる。

実験 1. 鞣製度と塩酸による品質低下との関係

先ず，鞣製度の種々異る革を濃塩酸にて処理し，その際の革の Ts の変化を調べた。即ち前記の如き方法にてヨシキリザメの真皮を wattle 液にて鞣し，次に充分水洗したものを実験材料として用い，これを 25 倍量の 13% 塩酸溶液中にて 50°C. 30 分間処理し，次に充分水洗して塩酸をのぞき，更に 1%チオ硫酸ソーダ溶液にて残存する酸を完全に中和し，再び水洗し，この革の Ts を測定した。

処理した革は，すべての場合，外観上の損傷は認められないが，第1表の如く比較的僅かではあるが，明かに Ts が低下した。従つて，サメ植物タンニン鞣革を上記のように酸処理を行うと，その革のコラーゲンの分解，或いはコラーゲンと植物タンニン剤との結合の開裂が生じ，外観上に損傷がなくとも革の品質が低下するようである。

Table 1. Effect of tannin fixation on the degeneration of shark leather due to concentrated HCl.

Kind of leather	Sample A (Ts, 70.7°C.), shark leather tanned with 1% wattle liquor	Sample B(Ts, 73.0°C.), sample A retanned with 2% wattle liquor	Samle C (Ts, 74.6°C.), sample B retanned with 4% wattle liquor
Ts of the leather neutralized after treating with HCl, °C.	69.0, 67.9 (about 10)**	70.8, 71.8 (about 9)**	73.1 (about 6)**

* Treated with 13% HCl at 50°C. for 30 mins.

** Figures in parentheses show the degree of degeneration expressed in

$$\left(\frac{\text{Ts of untreated leather}-\text{Ts of leather treated with HCl}}{\text{Ts of untreated leather}-\text{Ts of green skin}}\times 100\right)$$

第1表に見る如く，濃い鞣液にて鞣製したもの（Ts の高いもの）程，濃塩酸による Ts の低下が少くなるようである。なお，wattle 鞣革は酸に強いようで，1% 液にて 20 日鞣製したものも本実験条件下（13% 塩酸にて 50°C, 30 分処理）にて差程 Ts は低下しない。著者が低下率*と称したものでは，10% 程度の低下しか認められなかつた。

実験 2. 植物タンニン剤の種類と塩酸による品質低下との関係

wattle, cutch, sulfited quebracho, myrobalans 等にて鞣した革をそれぞれ酸処理して，Ts の変化を比較した。この際，前三者はタンニン液の最終濃度が4%になるまで鞣したものであるが，myrobalans 鞣革は

※ 低下率 $=\dfrac{\text{酸処理を受けない革の Ts}-\text{酸処理革の Ts}}{\text{酸処理を受けない革の Ts}-\text{原皮の Ts}}\times 100$

前記の如く比較的濃い液（濃度不明）で鞣したものである。第2表の附表の如く，myrobalans にて鞣したもの以外の Tc 及び Ts は，大約同様である。これら4種類の革を約 25 倍量の 13% 塩酸にて30分間処理した。処理温度は 40°C 及び 50°C の二種を行つた。

このように処理した革の Ts は，第2表の如くである。

Table 2. Relation between kinds of tanning materials used and the degeneration of shark leather due to concentrated HCl.

Tanning material	Ts of the leather neutraized after treating with HCl, °C.	
	Treated with HCl at 40°C. *	Treated with HCl at 50°C. *
Wattle bark	——	73.1 (6)**
Sulfited-quebracho	——	63.0, 65.1 (45)**
Cutch	55.4, 55.7 (56)**	Shrunk during treatment
Myrobalans	47.9, 49.5 (100)**	Shrunk during treatment

* Treated with 13% HCl for 30 mins.
** Figures in parentheses show the degree of degeneration.
The combined tannin and initial Ts of leather in the experiment are as follows.

Kind of leather	Ts, °C.	Combined tannin, % of hide substance
Tanned with wattle bark extract	74.6	about 50
〃 〃 sulfited quebracho	74.3	〃
〃 〃 cutch extaract	69.5	〃
〃 〃 myrobalans extract	61.5	about 20

表記のように myrobalans 鞣革は，鞣製度の低いものではあるが，40°C にてすでに 100% の低下率をしめし，50°C にては酸処理中に収縮した。wattle 鞣革は，前実験に於けると同様に，僅かしか Ts は低下しなかつた。quebracho 鞣革は，wattle 鞣革よりや不安定である。cutch 鞣革は，wattle 及び quebracho 鞣革と同程度の鞣製度であるにも拘らず，50°C にて酸処理中すでに収縮した。

このように wattle 鞣革と cutch 鞣革とが濃塩酸に対し，安定性の差のある理由は，今の所不明である。なお，著者の実験によると，水素結合を切る力があるといわれる濃厚尿素溶液に対する上記両者の安定性は塩酸に対する場合と逆である※。

実験 3. 酸濃度と品質低下との関係

wattle 液（最終濃度…4％）にて鞣製したサメ革（Ts…74.6°C）を種々の濃度の塩酸にて処理（処理時間…30分，温度…50°C）し，Ts の変化を調べた。得た結果は第3表の如くである。

Table 3. Effect of the concentration of HCl on the degeneration of wattle-tanned shark leather.

Concentration of HCl, %	13	15	20
Ts of leather neutralized after treating with HCl, °C. *	73.1 (6)**	71.2 (15)**	Shrunk during the treatment

Ts of untreated leather……74.6°C.
* Treated at 50°C. for 30 mins.
** Figures in parentheses show the degree of degeneration.

※ Table A. Effect of urea on the Ts of vegetable tanned shark leather.

Tanning material	Ts, °C.	
	Untreated leather	Leather washed after treating with 60% urea at room temperatuer for 20 hours.
Wattle bark	76.9, 77.0, 78.9	48.1, 52.0, 52.7, 57.5
Cutch	72.6, 72.9	67.4, 68.5, 69.7

表記の如く，wattle 鞣したサメ革（Ts…74.6°C）は，塩酸濃度が 15%（処理温度…50°C，処理時間…30分）にては比較的安定であるが，酸濃度が 20% になると酸処理中に収縮，変質した。

実験 4. 塩酸による品質低下に対する食塩の阻止効果

既に二，三の研究者[1),8),9)]によつて報告されているように，サメ生皮を塩酸処理して，鱗を除こうとする際には，塩酸に食塩を加えることが是非必要で，食塩を加えないと，皮は収縮，分解する。植物タンニン鞣革についても，在来一般に脱鱗用の塩酸に多量の食塩が加えられている。これは生皮の場合と同様，革の変質を阻止することを目的としたものと考えられるが，この阻止効果について，研究報告されたことはないようである。

著者はサメ植物タンニン鞣革の塩酸による品質低下に対し，食塩がどのような阻止効果を表わすか，特に外観上何等の損傷を認められない際に，なお生ずる所の革の品質低下（Ts の低下として認められる）に対し，どのような仂きをするかを調べた。

ヨシキリザメの真皮を cutch 液にて，順次濃度を高め（最終濃度…4%）ながら，4ケ月間鞣製したものを実験材料とした。この革の Ts は 67.5～70.2°C であつた。

実験 a： 先ず一定量の食塩を加えた 12% 塩酸液に上記の革（予め，同濃度の食塩水に1夜浸漬したもの）を浸漬し，50°C にて 30 分間処理し，革の酸による品質低下に対する食塩の阻止効果を調べた。食塩を 10% 加えても，効果は認められず，食塩を加えない場合と同様に酸処理中革は元の長さの 70% に収縮した。食塩を 20% 加えると，酸処理中に収縮はしないが，革はその抗張力を著しく失つた。

実験 b： 実験 a と同様の実験を繰返した。たゞし，処理温度を 40°C に低下させた。得た結果は第4表の如くである。

Table 4. Effect of NaCl on the degeneration of cutch-tanned shark leather due to concentrated HCl.

NaCl content in HCl	Ts of leather neutralized after treating with HCl*, °C.
10%	52.3, 52.9
None	52.9, 53.9, 54.3
20%	50.8
None	52.9, 53.9, 54.3

Ts of untreated leather…67.5, 68.3, 70.2°C.

* Treated with 12% HCl at 40°C. for 30 mins.

実験 a にて食塩を 20% 加えた場合には，差少ながら食塩は，酸による革の品質低下に対し，阻止効果を現すように思われたが，第4表の結果によると cutch 鞣した革の塩酸による品質低下に対し，食塩は阻止効果を有していないようである。

実験 5. 酸処理により Ts の低下したサメ植物タンニン鞣革を再鞣製する効果

前諸実験に見られるように，植物タンニン鞣革は酸処理すると，Ts が低下する。これは鞣した効果が減少したことを意味している。この場合，これらの革をもう一度タンニン液に浸漬するならば，再び鞣されて Ts が上昇し，革の品質が向上するのではなかろうか。事実，或る製革業者は，酸を完全に除くために有効であると考えて，酸脱鱗した後サメ革を再びタンニン液に漬けている。これらは前記のような意味でも有効であるのではなかろうか。

この点を確めるため，次のような実験を行つた。ヨシキリザメの真皮を wattle 液に浸漬し，次第に濃度（最終濃度…4%）を高め，約3ケ月間鞣した。これを充分水洗した後，一部にて Ts を測定し，残余を25倍量の 14% 塩酸溶液にて 50°C，30 分間処理し，水洗，中和した。この一部にて再び Ts を測定し，残部を再び 4% wattle 液にて 10 日間鞣し，その Ts を測定した。このような実験を2回行つた。それらの結果は第5表の如くである。4% wattle 鞣革は酸に強いもので，この場合の酸処理にても，Ts は 2～4°C低下したのみで，これを更に前と同濃度の wattle 液にて鞣すと，酸処理革に比し 6～9°C 酸処理前の革に

比しても 4～5°C 上昇した。

Table 5. Effect of retanning on the Ts of wattle-tanned shark leather treated with concentrated HCl.

No. of experiment	Ts, °C.		
	Untreated leather, tanned with 4% tan liquor for 3 months	Leather neutralized after treating with concentrated HCl	Leather retanned with 4% tan liquor for 10 days after treating with HCl
1	74.4, 74.7	70.0, 71.7	80.0, 80.1
2	74.4, 74.7	72.6,	78.8, 79.2

このようにサメ植物タンニン鞣革は，酸脱鱗後には再鞣製するのがよいようである。

本実験に於いては実用上の立場を考えて，wattle 鞣革を用いたが，前記のようにこの watlle 鞣革が酸に対し比較的安定なものであるので，本実験は所期の目的を明かにするには不充分のようでもある。

然し，本実験に用いた4％鞣革は，第2図の結果から考えると，充分に鞣され，その Ts は平衡に達していたものと思われる。酸処理後の再鞣製は同濃度にて 10 日間行つたものであるが，この間に酸処理前に比して Ts が 4～5°C 上昇したのは，単に鞣製期間の延長ということのみではないように思われる。これは酸処理，水洗等の処理により革が鞣され易い状態になつたのではあるまいか。

このような想像は著者の行つた次のような実験の結果からも一応確かなように思われる。

植物タンニン鞣革を水洗し再鞣製する効果

次第に濃度を高めながら，cutch 液（最終濃度4％）にヨシキリザメの真皮を 80 日間浸漬，鞣製し，この革を三部に分けて，次のように処理した後，Ts 及び Tc を測定した。即ち次の三部に分けた。A…水洗する。B…そのまゝ更に1ケ月間鞣した後水洗する。C…水洗した後再び元の鞣液にもどして，更に1ケ月間鞣した後水洗する。

得た結果は第6表の如くである。

Table 6. Effect of washing vegetable tanned shark leather on the increases of shrinkage temperature and combined tannin by retannage.

Kind of leather	Ts, °C.	Combined tannin, % of hide substance
Tanned with 4% cutch liquor for 3 months	70.5, 70.9 (68.5, 70.3)*	65.0, 65.1
Retanned with 4% cutch liquor for 1 month	73.9, 73.3 (76.9, 67.0, 78.7)*	72.2
Retanned with 4% cutch liquor for 1 month after washing with tap water	75.7, 76.0, 76.8 (80.8, 80.9)*	76.0, 79.2

* Figures in parentheses show the Ts of leathers tanned or retanned with 4% wattle liquor.

植物タンニン鞣に於いて，タンニン剤中の非タンニン分は純タンニン分の鞣製作用を阻止するものであるから** 第6表に於いて水洗効果の現われるのは，革中の非タンニン分がのぞかれて，純タンニン分の滲透が容易になつたためであろう。

同様の実験を wattle にても行つたが，類似した結果が得られた。（第6表，参照）

** 著者の行つた次の一実験の結果にてもこのことが解る。

Table B. Effect of nontannins on the Ts and combined tannin of vegetable tanned leathre.

Tan liquor applied	Ts, °C.	Combined tannnin, % of hide substance
2% wattle bark extract	78.9, 79.0	42.0. 42.5
2% wattle and 1 % nontannins of myrobalans	73.9, 74.7 71.8	32.1, 35.1

要　　約

（1） ヨシキリザメ皮を植物タンニン鞣液に浸漬し，次第に濃度を高めながら鞣すと，2～3％の濃度（鞣製期間，合計 60 日間）にて結合タンニン量（Tc）も熱収縮温度（Ts）も大約一定値に達する。この際，wattle, cutch 或いは sulfited quebracho にて鞣したヨシキリザメ革は Tc…45～50%，Ts…70～75°C である。

なお，サメ植物タンニン鞣革の Ts と Tc との間には，植物タンニン剤の種類の如何に拘らず，大約直線関係が認められ，従つて植物タンニン鞣革の Tc は，その Ts を測定することによつて推察することができる。

（2） サメ植物タンニン鞣革を濃厚塩酸にて処理すると，外観上何等の損傷のない場合でも，Ts の低下によつて認められる所の品質の低下が生じる。この低下の程度はその革の鞣製条件及びその酸処理条件によつて異る。

a） 鞣製度の高い革ほど，酸による Ts の低下が少い。

b） 鞣しに用いた植物タンニン剤の種類によつて Ts の低下に差異がある。cutch 鞣革は wattle 鞣革に比して遥に酸に対し不安定である。

c） 酸処理に用いる酸液の濃度及び温度が高いほど，Ts の低下は大になる。

（3） 酸処理液へ食塩を加えても，殆んど革の Ts の低下は阻止されないようである。

（4） 酸処理後，水洗，中和した革を比較的短期間でも再鞣製すると，革の Ts 及び Tc が比較的顕著に向上する。これは多分酸処理，水洗等により，革に含まれていた非タンニン分が除かれて，タンニン分が革へ滲透し易くなるためであろう。

上記の諸結果から，サメ皮を製革する場合次のような事を考慮するのがよいと思う。

植物タンニン剤としては wattle（cutch は不可）を用い，その鞣液の最終濃度は 2～3% 濃度でよいように思われる。脱鱗に際しては外観上何等の損傷のないような場合でも，革の品質が低下するから，酸処理後水洗し，その Ts の変化を調べ，この変化を参照しつつ，酸処理を行うのがよい。酸処理後に短期間でもよいから，再鞣製することが望ましい。このようにすると品質がかなり向上する。なお，酸脱鱗液へ食塩を加えることは，著者の結果では，余り効果がないようで，在来，業者が行つている食塩の使用は考慮の余地があるように思う。

終りに臨み，御助言を頂いた石田正男先生及び実験の一部に尽力下さつた太田良三氏に深謝の意を呈す。

文　　献

1） 高橋豊雄： 日水会誌，20，1110，(1955).

2） 谷崎広樹： 特許 63075，1924 年.

3） 深山義道，小坂部勇： 日水会誌，9，123 (1940).

4） R.B. Hobbs： *J. Am. Leather Chem. Assoc.*, 35, 272 (1940).

5） K.H. Gustavson： "Advance in Protein Chemistry", 5, 353 (1949).

6） 高橋豊雄，田中武夫： 日水会誌，16，603 (1953).

7） 高橋豊雄： 日水会誌，12，35 (1943).

8） 清水　誠： 東工学報，8，370 (1939).

9） 大城善太郎： 鹿児島水産専門報告，1，94 (1950).

東海區水産研究所研究報告

目　　次

第１号…………昭和25年12月

業績．A.
No.
1．水産食品鮮度規定の化学的研究……………………………………天野慶之

第２号…………昭和26年１月

業績．A.
No.
2．定置網の研究……………………………………………………宮本秀明

第３号…………昭和27年１月

業績．B.
No.
1．脂質の栄養価に関する研究

第Ⅱ報　長須鯨油及びその硬化油，重合油の栄養価に就て……………東　秀雄　金田尙志　石井清之助

2．肝油の高周波による採取……………………………………………東　秀雄　衣巻豊輔　梅本　滋

3．魚肉鮮度簡易測定法

第５報　魚肉水浸出液中の蛋白質の安定性に就て……………………天野慶之　富谷章子

4．腐敗魚肉醤油の栄養価に就て………………………………………金田尙志　岡田　稔　山田充阿彌

5．魚類のメラニン細胞拡張ホルモンに就て

第２報　脳下垂体の新鮮度による影響…………………………………荒川　清

6．魚肉に於ける枸櫞酸の生成……………………………………………山田紀作　鈴木たね子

7．貝毒に関する研究，麻痺性貝毒に就て（予報）………………………橋本芳郎　神名孝一　塩川あや子

8．水産皮革の理化学的研究

第３報　サメ皮の保蔵について（予報）…………………………………高橋豊雄　田中武夫

9．タンニン染めにおける海水の使用について…………………………右田正男　竹井　誠

10．南氷洋産塩蔵鯨肉に関する研究………………………………………新田忠雄　岡田　稔　梅本　滋

11．海藻の胞子の放出・散布及び着生に関する研究

（海藻胞子付けの研究第８報）……………………………………………須藤俊造

12. 海流勢力の消長に就て

第2報　日本海，黄海，東海方面の海流瓶などの漂流 ………………………… 宇田道隆

15. ナシフグの毒性……………………………………………………………… 橋本芳郎

16. 鯨肝油及びその分子蒸溜油ビタミンAの生理的効力…………………… 佐藤佳一　中山昭彦　平尾秀一　衣巻豊輔

17. 貝毒に就いて ……………………………………………………………… 橋本芳郎　右田正男

18. 瀬戸内海におけるイワシの漁況について

第1報　漁獲高の永年変化 ……………………………………………… 土井長之

19. アサクサノリの胞子の放出，浮游及び着生

（海藻胞子付けの研究第9報）…………………………………………… 須藤俊造

20. アサクサノリの生活史に就いて，特に秋に立込んだヒビに最初

に着く胞子の性質（海藻胞子付けの研究第10報）……………………… 須藤俊造

21. 北海道鰊資源の研究

第三報　一尾の親魚より育つ稚魚数 …………………………………… 川名武

22. 北海道鰊資源の研究

第四報　東北沿岸の小鰊の漁況と北海道春鰊の稚魚量 ……………… 川名武

23. 脂質の栄養価に関する研究

第三報　重合鰮油の栄養価（其の一）………………………………… 東秀雄　金田尚志

26. 魚肉腐敗の化学的研究

第2報　腐敗生産物に対する外囲条件の影響 ………………………… 東秀雄　岡田稔　山田充阿彌

28. ムラサキイガイの放卵放精

第3報　卵巣卵は何故受精不可能か—卵の成熟する時期と場所 ………… 岩田清二

29. ムラサキイガイの放卵放精

第4報　塩化カリ注射による放出 ……………………………………… 岩田清二

27. 魚肉腐敗の化学的研究

第3報　腐敗生産物を原料とする酵母の製造 ………………………… 東秀雄　岡田稔　山田充阿彌

25. 魚肉腐敗の化学的研究

第1報　好気的腐敗生産物に就て ……………………………………… 東秀雄　岡田稔　山田充阿彌

32. 脂質の栄養価に関する研究

第4報　重合鰮油の栄養価（其の二）………………………………… 東秀雄　金田尚志　石井清之助

31. フグ卵巣糠漬に就て …… 右田正男 橋本芳郎

30. フグ毒定量法 …… 橋本芳郎 右田正男

33. 底曳網の網成りと抵抗 …… 野村正恒

34. ホッケの稚魚に就て …… 阿部宗明

35. サメ肝油不鹼化物の簡易定量法 …… 東秀雄 衣巻豊輔

36. 水添魚油の泡立ちに関する研究（第2報） …… 東秀雄 金子徳五郎

37. ヒジキの卵，精子の放出及び幼胚の離脱と着生について

（海藻の胞子付けの研究，第11報） …… 須藤俊造

42. ヒジキの株の成長について …… 須藤俊造

38. ラムサキイガイの放卵放精

第5報 切り出した外套膜片から成熟卵を得る方法 …… 岩田清二

39. キトール及びその加熱物の生理的効果 …… 東秀雄 金田尚志 新間彌一郎 山本富子

41. 魚市場に於ける汚染と浄化に関する研究（予報） …… 鉄本総吾 山田金次郎 高瀬明

44. 黒潮の流軸と潮流の変動 …… 宇田道隆

第4号……昭和27年9月

業績．B.
No.
24. 冬春季伊豆近海における Copepoda の分布について …… 本城康至

48. ムラサキイガイの放卵放精

第7報 KCl 放出の酸による抑制 …… 岩田清二

49. ムラサキイガイの放卵放精

第8報 アルカリ金属及びアルカリ土金属塩化物の放出能力比較 …… 岩田清二

50. ムラサキイガイの放卵放精

第9報 温度上昇による産卵の機構 …… 岩田清二

53. 魚粉食用化に関する研究 …… 東秀雄 新田忠雄 長倉克雄 梅本滋

46. ムラサキイガイの放卵放精

第6報 外套膜片のアルカリ処理による放出 …… 岩田清二

43. 防腐剤の作用機構に関する研究

第1報 Hexamethylenetetramine と Formaldehyde の殺菌並に
静菌作用に就て …… 山田金次郎

51. 擂潰機の混合性能について…… 松本重一郎 田中武夫 新井とみ子

47. 脂質の栄養価に関する研究
第V報 重合鰮油の栄養価其の三 …… 東秀雄 金田尚志

45. アサクサノリの生活史に就いて，特に秋に立込んだヒビに最初に着く
胞子の性質 第2報 …… 須藤俊造 藤山虎也

54. れん製品の研究
I. サメ肉の鮮度低下とかまぼこを形成する能力について …… 高橋豊雄 松本重一郎 新井とみ子

55. アブラボウズ体油の脂肪酸組成及びその栄養価について…… 金田尚志

58. 海藻油及びそのステロールに関する研究
第Ⅱ報 オホバモク・ステロールの構造に就て …… 金田尚志

52. 魚類の脳下垂体ホルモンの研究
I. ニジマスの産卵促進について …… 右田正男 松本重一郎 木下寛 佐々木瑛 芦川一郎

57. 鱈幽門垂の脂質 …… 平尾秀一 衣巻豊輔

56. 水中を動く網地が受ける水の抵抗
I. 本目・蛙又及び無結節網地の流水抵抗の違い …… 宮本秀明 野村正恒 下崎吉矩

59. 北海道産ホッケ *Pleurogrammus azonus* の魚体調査に就て …… 竹村嘉夫

60. れん製品の研究
Ⅱ. 足の強さの一測定法について …… 松本重一郎 新井とみ子

61. 偏光々線によるホッケ鱗の観察…… 竹村嘉夫

62. 魚類標識方法の研究
I. 標識用針金の耐蝕性 …… 竹村嘉夫

63. 水産動物のビタミン B_{12} について
I. 魚類のビタミン B_{12} 含量（其の一）…… 簗瀬正明

65. ワカメ・カジミ及びアラメの游走子の放出について（2）
（海藻の胞子付けの研究，第13報）…… 須藤俊造

66. ホッケ *Pleurogrammus azonus* JORDAN ET METZ 卵巣
に就ての一知見 …… 竹村嘉夫

第 5 号…………昭和 27 年 12 月

業績. A.
No.
3. 邦産アワビ属の増殖に関する生物学的研究 ……………………………… 猪野 峻

第 6 号…………昭和 28 年 9 月

業績. B.
No.
64. 豆南黒潮海域に於ける微量化学成分の季節変化—Ⅰ.
硝酸塩及び燐酸塩の動きに伴う N-P 比に就て ……………………… 深井麟之助

67. 能登半島近海に於けるホツケの放流試験（予報） ……………………… 阿部宗明 市川善三郎

68. 湖沼に於ける「ワカサギ」「オイカワ」の趨光性に就いて………………… 川田三郎 吉牟田長生 外四名

69. 魚群探知機に依る湖沼水深測量 …………………………………………… 川田三郎 吉牟田長生 外四名

73. 魚肉及び乳製品，マーガリン中のビタミン A の定量法………………… 平尾秀一 山田充阿彌 菊地嶺

74. 硫酸銅による漁網防腐の研究—Ⅰ.
硫酸銅の簡易迅速定量法について ………………………………………… 右田正男 松本重一郎 里見至弘

75. 5・ニトロ・2・フルフラデヒド・ヒミカルバゾンを消費する細菌に就て …… 天野慶之

76. 脂質の栄養価に関する研究—Ⅵ.
板鰓類肝油の栄養価 ………………………………………………………… 金田尚志 石井清之助

77. 脂質の栄養価に関する研究—Ⅶ.
イワシ硬化油中に含まれる各種脂肪酸の栄養価 ………………………… 金田尚志 石井清之助

78. ヒメアサリとアサリの差異について ……………………………………… 相良順一郎

79. 魚肉の坐りについて—Ⅰ.
坐りに対する無機塩類の影響 ……………………………………………… 右田正男 岡田稔

80. 魚肉の坐りについて—Ⅱ.
坐りに対するアルカリ金属塩の影響 ……………………………………… 右田正男 岡田稔

81. 塩蔵鯨肉の変質判定に就て ………………………………………………… 天野慶之 富谷章子

82. 塩蔵鯨肉中の揮発酸のペーパー・クロマトグラフに依る分別に就て …… 天野慶之 富谷章子

83. 魚肉の腐敗に伴うアミノ酸の消長に就て ………………………………… 天野慶之 尾藤方通

84. 魚肉の pH に関する研究

第1報 ビンナガマグロ各部位 pH の新鮮時の変動について ……… 河端俊治・藤巻正生・天野慶之・富谷章子

(マグロ肉に関する研究—I.)

85. 防腐剤の作用機構に関する研究—I.

Formaldehyde に対する Cysteine の拮抗現象に就て ……… 山田金次郎

86. アサリ・ハマグリの棲息密度と生長との関係，並びに相互間の影響について ……… 相良順一郎

87. 水中を動く網地が受ける水の抵抗—II.

網目の形状の変化と流水抵抗 ……… 宮本秀明・野村正恒

88. 太平洋西北部の表層から得られたミヅウオダマシ(新称)とエチオピヤ… 阿部宗明

89. 魚類体中のビタミン A の消長に関する研究—I.

アブラザメ *Squalus suckleyi* に関する研究 ……… 東秀雄・平尾秀一・清水和子・山田充阿彌・菊地嶺

90. 野嶋沖合に於ける黒潮隣接水域の水平混合と流動 ……… 平野敏行

91. 鋼索深度更正の一つの試み ……… 平野敏行

92. 魚類体中のビタミン A の消長に関する研究—II.

鮫類体中に於けるビタミン A の分布 ……… 東秀雄・平尾秀一・清水和子・山田充阿彌・菊地嶺

93. 深海産鮫類肝油の利用に関する研究—II.

炭化水素の定量法について ……… 東秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎

94. 深海産鮫類肝油の利用に関する研究—III.

炭化水素中の Squalene 量の算出について ……… 東秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎

95. ねん製品の研究—III.

すり身の物性の測定法について ……… 松本重一郎・新井とみ子

96. 水産皮革の理化学的研究—IV.

サメ皮の水分に就いて ……… 高橋豊雄・塩川あや子

97. 水産皮革の理化学的研究—V.

サメ皮の圧出水分について ……… 高橋豊雄

98. 八丈島のトビウオ類に就いて及び日本近海のトビウオ類の学名に就いて—I. トビウオ ……… 阿部宗明

99. 年令組成から推定された生残率の比推定による精度計算法—I.
魚体抽出が単純抽出であつた場合 …… 田中昌一

100. 水産動物のビタミン B_{12} について—II.
魚類のビタミン B_{12} 含量（其の二） …… 簗瀬正明

101. 水産動物のビタミン B_{12} について—III.
貝類のビタミン B_{12} 含量 …… 簗瀬正明

102. ねり製品の保蔵の研究—I.
ねり製品の腐敗判定について …… 内山均 横山和吉

103. ねり製品の保蔵の研究—II.
ねり製品の腐敗に伴う揮発酸のペーパークロマトグラフによる
検出について …… 内山均 横山和吉

104. 食品防腐剤（フラスキン, D·H·A·パナゾーン）並に紫外線灯
の煉製品に対する防腐に関する研究 …… 鉄本総吾 内山均 横山和吉 興津知明

105. 防腐剤の作用機構に関する研究—III.
Cysteine 代謝に及ぼす Formaldehyde の影響 …… 山田金次郎 有賀佐代子

106. 底曳網の模型実験 …… 野村正恒 安井達夫

107. 商用周波交流による電気スクリーンの性能について …… 橋本鶴夫

108. 北海道西岸で漁獲されたホツケの食餌について …… 竹村嘉夫 山椋隆幹

第7号……昭和29年6月

水産生物

水産資源

田中昌一 （業績 B. No. 119）
年令組成から推定された生残率の比推定による精度計算法——I.
体長により層別して得られた年令組成の場合

田中昌一 （業績 B. No. 121）
体長により層別する二重抽出法によつて推定された年令組成の精度

貝類

猪　野　　峻　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 120)

サザエ (*Turbo cornutus* SOLANDER) の生態学的研究——I.

環境の相違による棘の消長

藻　　類

須藤俊造・梅林　脩　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 139)

アサクサノリの「アナクサレ病」(新称) について

須藤俊造・梅林　脩　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 140)

ノリのクサレに対する二，三の薬剤の抑制効果

プランクトン

高　野　秀　昭　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 142)

八丈島の海産珪藻類 (予報)

高　野　秀　昭　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 143)

簡易な深層プランクトン採集法

海　　洋

深井麟之助　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 113)

北太平洋赤道附近に於ける栄養塩類の分布に就て

漁具・漁法

宮　本　秀　明　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 114)

桝網にはいる魚は嚢の位置・網の種類をどのように選択するか——I.

カイズ・クロダイ

宮本秀明・塩田衛二　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 133)

桝網にはいる魚は嚢の位置・網の種類をどのように選択するか——II.

スズキ・ブリ・イシダイ其他

宮本秀明・塩田衛二　　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 136)

桝網にはいる魚は嚢の位置・網の種類をどのように選択するか——III.

ヒラメ・カレイ・アナゴ・ウナギ其他

水　産　機　械

源生一太郎・橋本鶴夫　　　　　　　　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 129)

漁船機関の排気熱を利用する吸収式冷凍機の試作研究

松本重一郎・相良順一郎・新井とみ子　　　　　　　　　　　(業績 B. No. 141)

ひき肉の細かさの測定について（チョッパーの研究）

水産物利用及化学

保　　蔵・変敗要因

天野慶之・尾藤方通・河端俊治　(業績 B. No. 118)
漁獲直後の処理方法が肉質に及ぼす影響――I.
ソーダカツヲ筋肉の解糖作用の相違に就て
天野慶之・富谷章子　(業績 B. No. 125)
冷凍メカジキの緑変現象に関する研究――II.　緑変の発生要因に就て
戸沢晴巳・興津知明　(業績 B. No. 122)
ニトロフラン誘導体による細菌脱アミノ反応の阻害に就て

魚介肉・蛋白質

松本重一郎・新井とみ子　(業績 B. No. 128)
れん製品の研究――IV.　すり身と製品との物性の変化について
右田正男・岡田　稔　(業績 B. No. 116)
魚肉の坐りについて――III.　坐りに対する有機変性剤の影響
岡田　稔・多田節子　(業績 B. No. 110)
魚介肉の膨潤――I.　酸及びアルカリの影響
高橋豊雄・竹井　誠　(業績 B. No. 126)
鯣の吸水について――I.　乾燥方法及び貯蔵の影響

魚油・ビタミン

東　秀雄・村山繁雄・田部井菊子　(業績 B. No. 115)
水産動物油の酸化，重合に関する研究――I.
酸化，重合による食用油の製造に関する研究
東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎　(業績 B. No. 127)
深海産鮫類肝油の利用に関する研究――IV.
ユメザメ（*Centroscymnus owstoni* GARMAN）に於ける炭化水素の消長について
東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎　(業績 B. No. 130)
深海産鮫類肝油の利用に関する研究――V.
ヘラツノザメ類 *Deania* spp. に於ける炭化水素の消長について
東　秀雄・金子徳五郎・杉井麒三郎　(業績 B. No. 131)
深海産鮫類肝油の利用に関する研究――VI.
アイザメ類（*Centrophorus* spp.）の肝油の炭化水素含量について
金田尚志・石井清之助　(業績 B. No. 117)
脂質の栄養価に関する研究――VIII.

高度不飽和脂肪酸の栄養価及び毒性について（１）

金田尚志・荒井君枝　　（業績 B. No. 124）

脂質の栄養価に関する研究——IX.　アブラザメ重合肝油の栄養

金田尚志・桜井寿惠　　（業績 B. No. 135）

脂質の栄養価に関るす研究——X.　高級アルコールと脂肪酸のエステルの大量投与による白鼠のセボレヤ発生について（その１）

金田尚志・石井清之助　　（業績 B. No. 123）

南氷洋産 *Ophiodon* sp. の脂肪酸組成

東　秀雄・平尾秀一・山田充阿彌・菊地　嶺　　（業績 B. No. 134）

深海産鮫カエルザメ（*Heteroscymnus longus* TANAKA）のビタミンA含量

平尾秀一・山田充阿彌・菊地　嶺　　（業績 B. No. 132）

魚肉のビタミンAに関する研究——I.

魚体の部位によるビタミンA含量の差異

簗瀬　正明　　（業績 B. No. 145）

水産物のビタミン B_{12} について——IV.

「ヒトデ」のビタミン B_{12} について（其の１）

水産皮革

髙橋豊雄・田中武夫　　（業績 B. No. 100）

水産皮革の理化学的研究——VI.　サメ皮の保蔵について

髙橋豊雄・田中武夫　　（業績 B. No. 111）

水産皮革の理化学的研究——VII.　サメ皮の保蔵について

髙橋豊雄・田中武夫　　（業績 B. No. 111）

水産皮革の理化学的研究——VIII.　魚皮革の耐熱性に就いて（其の３）

高橋　豊雄　　（業績 B. No. 133）

水産皮革の理化学的研究——IX.　サメ皮の膨潤について（其の１）

第8号………昭和29年9月

漁具・漁法

宮本秀明・野村正恒・野沢　靖　　（業績 A. No. 4）

1950 年 12 月から 1953 年 5 月末に至る三漁期間の太平洋岸中南部冬季及び春季ブリ漁況について

小山　武夫　　（業績 A. No. 5）

ダイナマイト水中爆発による魚への影響

BULLETIN OF TOKAI REGIONAL FISHERIES RESEARCH LABORATORY

TABLE OF CONTENTS

No. 1. ············December, 1950. Contribution. A. No.

AMANO, K.

Chemical studies on the freshness test of aquatic food products. ······································· 1

No. 2. ············January, 1951.

MIYAMOTO, H.

Study on the setnet. ··· 2

No. 3. ············January, 1952. Contribution. B. No.

HIGASHI, H., KANEDA, T. and ISHII, S.

Studies on the nutritive value of lipids.

Part Ⅰ. Nutritive value of fin whale oil and its polymerized oil. ·· 1

HIGASHI, H., KINUMAKI, T. and UMEMOTO, S.

Liver oil extraction by radio heater. ··· 2

AMANO, K. and TOMIYA, F.

Simplified test on the freshness or fin meat.

(5) Effect of freshness of fish meat on the stability of its aqueous extract against alcohol. ··· 3

KANEDA, T., OKADA, M. and YAMADA, J.

Study on the nutritive values of "Soy-sauce" prepared fish meat. ······································· 4

ARAKAWA, K.

Melanophorhormone of fish.

Ⅰ. Effect of the freshness of fish upon the potency of melanophormones. ···························· 5

YAMADA, K. and SUZUKI, T.

Citric acid formation in fish. ··· 9

HASHIMOTO, Y., KANNA, K. and SHIOKAWA, A.

On shell-fish poisons.

Ⅰ. Paralytic poison (Preliminary report). ·· 7

TAKAHASHI, T. and TANAKA, T.

Physico-chemical study on the skin and leather of marine animals.

Ⅲ. Preservation of shark-skin (1). ··· 8

MIGITA, M. and TAKEI, M.

Tanning net in sea water. ··· 6

NITTA, T., OKADA, M. and UMEMOTO, S.

Studies on the salted whale meat produced in the Atrantic Ocean. ······································ 10

SUTO, S.

Studies on shedding swimming and fixing of the spores of seaweede. ··································· 11

UDA, M.

On the fluctuation of oceanid current.

2nd report. Drift current in Japan Sea, Yello Sea and East China Sea. ························· 12

HASHIMOTO, Y.

On the toxicity of a pfuffer "Nashi-fugu" (*Sphoeroides uermicularis radiatus*). ················ 15

SAHASHI, K., NAKAYAMA, A., HIRAO, S. and KINUMAKI, T.

The biological potency of vitamin A in whale liver oil and its molecular distillates. ………… 16
HASHIMOTO, Y. and MIGITA, M.
On the shell-fish poisons.
I. Inadequacy of acidulated alcohols with hydrochloric acid as solvent. ………… 17
DOI, T.
On the fishery of "IWASHI" in the Inland-Sea.
I. The secular variation of yield. ………… 18
SUTO, S.
Shedding, floating and fixing of the spores of *Porphyra tenera.* ………… 19
SUTO, S.
On the life history of *Porphyra tenera.* ………… 20
KAWANA, T.
Studies on the stock of Hokkaido herring.
III. How many herrings are produced per individual. ………… 21
KAWANA, T.
Studies on the stock of Hokkaido herring.
IV. Appearance of young herring along the coast of North-eastern Hondo correlated with the production of plentifull year-classes along the Western coast of Hokkaido. ………… 22
HIGASHI, H. and KANEDA, T.
Studies on the nutritive value of lipids.
(III) Nutritive value of polymeried sardine oil. (1) ………… 23
HIGASHI, H., OKADA, M. and YAMADA, J.
Chemical study on putrefaction of fish muscle.
Part 2. Influences of putrefing conditions on the decomposition products. ………… 26
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus eculis.*
(3) Why do not dertilize the ovarian eggs? ——Where and when do the eggs mature? ………… 28
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytiius edulis.*
(4) Discharge by KCL injection. ………… 29
HIGASHI, H., OKADA, M. and YAMADA, J.
Chemical study on putrefaction of fish muscle.
Part 3. Manufacture of food yeast from putrefied fish. ………… 27
HIGASHI, H., OKADA, M. and YAMADA, J.
Chemical study on putrefaction of fish muscle.
Part 1. Decomposition products of fish muscle under aerobic condition. ………… 25
HIGASHI, H., KANEDA, T. and ISHII, H.
Studies on the nutritive value of lipids.
Part IV. Nutritive value of polymerized oil. (2) ………… 32
MIGITA, M. and HASHIMOTO, Y.
On the pfuffer roe pickled in rice-bran. ………… 31
HASHIMOTO, Y. and MIGITA, M.
On the assay method of pfuffer poison. ………… 30
NOMURA, M.

Model experiments on two boat type trawl net. 33
ABE, T.
Notes on the young of the "Hokke". *Pjeurogrammus azonus* JORDAN ET METZ. 34
HIGASHI, H. and KINUMAKI, T.
Simplified determination of non-saponifiable matter in shark liver oil. 35
HIGASHI, H. and KANEKO, T
Foaming tendency of the partially reduced fish oil as flying oil. (Part II) 36
SUTO, S.
On shedding of eggs, liberation of embryos and their later fixing in *Hijikia fusiforme.* 37
SUTO, S.
On grouth "Bush" in *Hijikia fusiforme.* 42
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus edulis.*
(5) A method of obtain mature eggs from mantle piece. 38
HIGASHI, H., KANEDA, T., SHINMA, Y. and YAMAMOTO, T.
Biological activity of kitol and its thermally decomposed products. 39
TETSUMOTO, S., TAKASE, A. and YAMADA, K.
Studies on the bacterial contamination and sanitation of the fish market
(Preliminary Report). 41
UDA, M.
On the fluctuation of the main stream axis and its boundary line of Kuroshio. 44

No. 4. .... September, 1952. Contribution. B. No.

HONJO, K.
Distributon of copepoda in the adjacent seas of the Izu Island during winter
and spring. 24
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus edulis.*
(7) Acid inhibition of spawning by KCl. 48
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus edulis.*
(8) Comparison of inducing abilities of spawning among salts of alkali metals and
alkali earth metals. 49
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus edulis.*
(9) Mechanism of spawning by temperature rise. 50
HIGASHI, H. NITTA, T., NAGAKURA, K. and UMEMOTO, S.
Studies on the utilization of fish meat for food. 53
IWATA, K. S.
Spawning of *Mytilus edulis.*
(6) Discharge by alkali treatment. 46
YAMADA, K.
Studies on the mechanism of action of preservation.
1. Antibacterial action of hexamethylenetetramine and formaldehyde. 43
MATSUMOTO, J., TANAKA, T. and ARAI, T.
A study of mixing power of the grinding and mixing machine (Raikaiki). 51

HIGASHI, H. and KANEDA, T.

Studies on the nutritive value of lipids. Part V. Nutritive value of polymerized Sardine oil. (3) 47

SUTO, S. and FUJIYAMA, T.

On the life history of *Porphyra tenera*. II 45

TAKAHASHI, T., MATSUMOTO, J. and ARAI, T.

Studies on fish meat jellies.

1. The relationship between the freshness of shark meat and its ability to form "Kamaboko" jelly. 54

KANEDA, T.

Studies on the composition of fatty acids of the "Black Cod", *Erilepis zonifer*-body oil and its nutritive value. 55

KANEDA, T.

Studies on oils and sterols of algae.

Part II. Structure of *Sargassum*-sterol. 58

MIGITA, M., MATSUMOTO, J., KINOSHITA, H., SASAKI, A. and ASHIKAWA, I.

Studies on the hypophyseal hormone of fishes.

1. Stimulating effect upon the ovulation of trout. 52

HIRAO, S. and KINUMAKI, T.

Lipieds of phyloric caeca of cod (*Gadus macrocephalus* Tilesius). 57

MIYAMOTO, H., NOMURA, M. and SHIMOZAKI, Y.

Resistance of plane net against flow of water.

1. Effect of knot type on the resistance of net. 56

TAKEMURA, Y.

Morphometric measurements of the "Hokke", *Pleurogrammus azonus*, from Hokkaido. 59

MATSUMOTO, J. and ARAI, T.

Studies on fish meat jellies.

II. A method for determining jelly strength of fish meat jellies. 60

TAKEMURA, Y.

Observation of the scale of the "Hokke", *Pleurogrammus azonus*, by the use of polarized light. 61

TAKEMURA, Y.

Studies on the method of tagging.

I. Notes on the resistance of wire used for tagging experiment against corrosion. 62

YANASE, M.

Studies on the vitamin B_{12} of aquatic animals.

I. The vitamin B_{12} content of fishes. (1) 63

SUTO, S.

On shedding of zoospores in some algae of laminariaceae. II 65

TAKEMURA, Y.

On the ovary of ataka mackerel *Pleurogrammus azonus* JORDAN et METS. 66

No. 5. .... **December, 1952.** Contribution. A. No.

INO, S.

Biological studies on the propagation of Japanese abalone (Genus *Haliotis*). 3

No. 6. .... **September, 1953.** Contribution. B. No.

FUKAI, R.

Seasonal variations of minor chemical constituents in the waters of the Zunan-Kuroshio region—I.

On nitrogen phosphorus content ratio with the behaviors of nitrate and phosphate ············ 64

ABE, T. and ICHIKAWA, Z.

Preliminary report on the tagging experiments of the "Hokke", *Pleurogrammus azonus* JORDAN et METZ, carried out in Japan Sea off the coasts of Note Peninsula ························ 67

KAWADA, S. and YOSHIMUTA, C.

Fresh-water fish, *Hypomesus olidus* and *Zacco platypus* are attracted by artifical light ······ 68

KAWADA, S. and YOSHIMUTA, C.

Sounding of an inland lake by fish-finder ··· 69

HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R.

Determination of vitamin A in fish meat, dairy products and margarine···························· 73

MIGITA, M., MATSUMOTO, J. and SATOMI, Y.

Studies on fish net preservation by copper sulfate—I.

A simple determination of copper sulfate ··· 74

AMANO, K.

Action of *Pseudomonas fluorescens* upon 5-nitro-2-furfuraldehyde semicarbazone················ 75

KANEDA, T. and ISHII, S.

Studies on the nutritive values of lipids—VI.

Nutritive values of *Elasmobranchii*-liver oils ·· 76

KANEDA, T. and ISHII, S.

Studies on the nutritive values of lipids—VII.

Nutritive values of component fatty acids of hardened sardine oil ································ 77

SAGARA, J.

On the taxonomic difference between *Venerupis semidecussata* and *V. variegata*················78

MIGITA, M. and OKADA, M.

Setting phenomenon of fish muscle—I.

Influence of electrolytes ··· 79

MIGITA, M. and OKADA, M.

The setting Phenomenon of fish muscle—II.

Influence exerted by alkaline salts ··· 80

AMANO, K. and TOMIYA, F.

Evaluation of spoilage for cured whale meat···81

AMANO, K. and TOMIYA, F.

Identification of volatile acids in cured whale meat by paper partition chromatography ········ 82

AMANO, K. and BITO, M.

Consequence of free amino acids generated from decomposing fish muscle ························ 83

KAWABATA, T., FUJIMAKI, M., AMANO, K. and TOMIYA, F

Studies on pH of fish muscle—I.

Variation in pH of fresh albacore muscle on the locality examined. (Studies on the tunu meat—1) ·· 84

YAMADA, K.

Studies of the mechanism of action of preservatives—II.

Antagonism of formaldehyde action by cysteine ·· 85

SAGARA, J.

On the relationship between population density and growth of the clams, *Venerupis semidecussata* and *Meretrix meretrix lusoria* with the interactive influence upon their growth······ 86

MIYAMOTO, H. and NOMURA, M.

Resistance of plane net against flow of water—Ⅱ.

Effect of different shapes of the mesh upon the resistance of net against the flow ············ 87

ABE, T.

Records of the "Mizu-uo-damashi" (new Japanese name), *Anotopterus pharao*, and a record of the "Etchiopia", *Bramaraii*, from near the surface of the North-western Pacific ··· 88

HIGASHI, H., HIRAO, S., SHIMIZU, K., YAMADA, J. and KIKUCHI, R.

Studies on fluctuation of the vitamin A content in fishes—Ⅰ.

Study on vitamin A in the dogfish, *Squalus suckleyi* ··· 89

HIRANO, T.

Horizontal mixing and flow in a boundary area of the Kuroshio off Nojima-Zaki················· 90

HIRANO, T.

An attempt to correct errors of the sounding caused by wire inclination ······························ 91

HIGASHI, H., HIRANO, S., SHIMIZU, K., YAMADA, J. and KIKUCHI, R.

Studies on fluctuction of the vitamin A content in fishes—Ⅱ.

Study on vitamin A in sharks ··· 92

HIGASHI, H., KANEDA, T. and SUGII, K.

Studies on utilization of the liver oil of deep sea sharks—Ⅱ.

The determination of hydrocarbons ·· 93

HIGASHI, H., KANEDA, T. and SUGII, K.

Studies on utilization of the liver oil of deep sea sharks—Ⅲ.

The determination of the squalene content in hydrocarbons ·· 94

MATSUMOTO, J. and ARAI, T.

Studies on fish meat jellies—Ⅲ.

Measurement of physico-chemical properties of fish paste ·· 95

TAKAHASHI, T. and SHIOKAWA, A.

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals—Ⅳ.

On the water in shark skin ·· 96

TAKAHASHI, T.

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals—Ⅴ.

On the expressible water in shark skin ·· 97

ABE, T.

Notes on the flying-fishes of Hachijo Island, with nomenclatorial remarks on the flying-fishes of the mainland of Japan and Hokkaido—Ⅰ.

"Tobi-uo", *Prognichthys agoo*·· 98

TANAKA, S.

The method to calculate precision of survival rate estimated from age-composition, by ratio estimate—Ⅰ.

A method applied to random samplings·· 99

YANASE, M.

Studies on the vitamin B_{12} of aquatic animals—Ⅱ.

The vitamin B_{12} content of fish (2) ·· 100

YANASE, M.
Studies on the vitamin B_{12} of aquatic animals—III.
The vitamin B_{12} content of shell fish …………101
UCHIYAMA, H. and YOKOYAMA, W.
A study on the preservation of fish cake—I.
Chemical determination of the quality of fish cake …………102
UCHIYAMA, H. and YOKOYAMA, W.
A study on the preservation of fish cake—II.
Detection of volatile acid in fish cake by paper chromatograph …………103
TETSUMOTO, S., UCHIYAMA, H., YOKOYAMA, W. and OKITSU, T.
Experiment on the preservation of fish cake by chemicals and ultraviolet ray …………104
YAMADA, K. and ARIGA, S.
Studies on the mechanism of action of preservatives—III.
Effect of formaldehyde on cysteine metabolism of bacteria …………105
NOMURA, M. and YASUI, T.
Model experiments on trawl nets of various types …………106
HASHIMOTO, T.
An experiment on the performance of an electric fish screen …………107
TAKEMURA, Y. and YAMANE, T.
Notes on the food of *Pleurogrammus azonus* taken frcm the Western coast of Hokaido ……108

AQUATIC ANIMALS AND PLANTS

Fisheries Resources

TANAKA, S. (Contribution B. No. 119)
The mothod to calculate precision of survival rate estimated from age-composition, by ratio estimate——II. A method applied to age-composition obtained using length for stratification.

TANAKA, S. (Contribution B. No. 121)
Precision of age composition of fish estimated by double sampling method using the length for stratification.

Shellfish

INO, T. (Contribution B. No. 120)
Ecological studies of *Turbo cornutus* SOLANDER——I. Changes of the spines on the shell due to environments.

Aquatic Plants

SUTO, S. and UMEBAYASHI, O. (Contribution B. No. 139)
On the "Perforating disease" in Nori (*Porphyra*) culture.

SUTO, S. and UMEBAYASHI, O. (Contribution B. No. 140)

On the suppressing action of some agents on the diseases in Nori (*Porphyra*) culture.

Plankton

TAKANO, H. (Contribution B. No. 142)

Prelimioary report on the marine diatoms from Hachijo Island, Japan.

TAKANO, H.

A simple method for frequent sampling of plankton from deep layers.

OCEANOGRAPHY

FUKAI, R. (Contribution B. No. 113)

On the distribution of nutrient salts in the equatorial North Pacific.

FISHING GEAR AND METHODS

MIYAMOTO, H. (Contribution B. No. 114)

How do fish select positions of and materials for the bag when entering into "Masu-ami"?——I. Experiments with the black porgy, *Sparus swinhonis* GÜNTER.

MIYAMOTO, H. and SHIODA, E. (Contribution B. No. 133)

How do fish select poritions and kinds of the bags when entering into "Masu-ami"?——II. Field tests with the sea bass, *Lateolabrax japonicus* and several other species.

MIYAMOTO, H. and SHIODA, E. (Contribution B. No. 136)

How do fish select positions and kinds of the bags when entering into "Masu-ami"?——III. Field tests with flatfishes, eels and other marine animals.

FISHERIES MACHINERY

GENSHO, I. and HASHIMOTO, T. (Contribution B. No. 129)

Studies on an absorption refrigerating machine utilizing the exhaust heat of a fishing vessel engine.

MATSUMOTO, J. J., SAGARA, J. and ARAI, T. (Contribution B. No. 141)

On the estimation of the fineness of chopped meat(A study on the chopper).

UTILIZTION AND CHEMISTRY OF AQUATIC PRODUCTS

Preservation and Cause of Spoilage

AMANO, K., BITO, M. and KAWABATA, T. (Contribution B. No. 118)
Handling effect upon biochemical change in the fish muscle immediately after catch——I. Difference of glycolysis in the frigate mackerel killed by various methods.

AMANO, K. and TOMIYA, F. (Contribution B. No. 125)
Studies on the green discoloration of frozen sword fish——II. Some experiments on the cause of the discoloration.

TOZAWA, H. and OKITSU, T. (Contribution B. No. 122)
Inhibition of bacterial deamination by nitrofuran derivatives.

Muscles and Proteins of Aquatic Animals

MATSUMOTO, J. J. aud ARAI, T. (Contribution B. No. 128)
On relationships between physico-chemical properties of paste and steamed jelly.

MIGITA, M. and OKADA, M. (Contribution B. No. 116)
Setting phenomenon of fish muscle——III. Action of organic denaturants especially on the formation of friable jellies.

OKADA, M. and TADA, S. (Contribution B. No. 110)
Swelling of aguatic animal muscles——I. Influence of pH.

TAKAHASHI, T. and TAKEI, M. (Contribution B. No. 126)
Absorption of water by dried squid meat——I. Effect of drying process and storage conditions.

Fish Oils and Vitamins

HIGASHI, H. MURAYAMA, S. and TABEI, K. (Contibution B. No. 115)
Studies on the polymerization and oxidation of marine animal oils——I. Preparation of edible oil from marine animal oils.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (Contribution B. No. 127)
Studies on the utilization of the liver oil of deep sea sharks——IV. Hydrocarbon contents in "Yumezame", *Centroscymnus owstoni* GARMAN.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (Contribution B. No. 130)
Studies on utilization of the liver oil of deep sea sharks——V. Hydrocarbon contents in "Heratsunozame", *Deania* spp.

HIGASHI, H., KANEKO, T. and SUGII, K. (Contribution B. No. 131)
Studies on utilization of the liver oil of deep sea sharks——VI. Hydrocarbon contents in the liver oil of the "Aizame", *Centrophorus* spp.

KANEDA, T. and ISHII, S. (Contribution B. No. 117)

Studies on the nutritive values of lipids——VIII.

Nutritive value or toxicity of highly unsaturated fatty acids (1).

KANEDA, T. and ARAI, K. (Contribution B. No. 124)

Studies on the nutritive value of lipids——IX.

Nutritive value of polymerized liver oil of dog fish.

KANEDA, T. and SAKURAI, S. (Contribution B. No. 135)

Studies on the nutritive value of lipids——X. Seborrhea forming activity of ester of fatty acids with higher alchols upon the rats (1).

KANEDA, T. and ISHII, S. (Contribution B. No. 123)

The component fatty acids of *Ophiodon* sp.

HIGASHI, H., HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R. (Contribution B. No. 134)

Vitamin A content of "Kaeruzame," *Heteroscymnus longus* Tanaka, a kind of deep sea sharks.

HIRAO, S., YAMADA, J. and KIKUCHI, R. Contribution B. No. 132)

Vitamin A in fish meat—— I. Variation in the vitamin A content in fish meat by the anatomical locality.

YANASE, M. (Contribution B. No. 145)

Studies on vitamin B_{12} of aquatic animals——IV.

The vitamin B_{12} of the starfish (1).

Skin and Leather of Aquatic Animals

TAKAHASHI, T. and TANAKA, T. (Contribution B. No. 109)

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals——VI. On the spoilage of shark skin.

TAKAHASHI, T. and TANAKA, T. (Contribution B. No. 111)

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals——VII, On the preservation of shark skin.

TAKAHASHI, T. and TANAKA, T. (Contribution B. No. 112)

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals——VIII. On the heat stability of fish skin and leather (3)

TAKAHASHI, T. (Contribution B. No. 138)

Physico-chemical studies on the skin and leather of marine animals——IX. Swelling of shark skin (1)

No. 8.…………September, 1954.

FISHING GEAR AND METHODS

MIYAMOTO, H. NOMURA, M and NOZAWA, Y. (Contribution A. No. 4)

Fishing situations of the yellowtail in the Pacific coast, 1950~51 through 1952~53 seasons.

KOYAMA, T. (Contribution A. No. 5)

Effect of dynamite explosion on fish.